

Untersuchungen zum Einfluss von Buprenorphin auf das  
Alkoholtrinkverhalten und das  
allgemeine Trinkverhalten bei Ratten

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der  
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von  
Matthias Marquitz  
geboren am 29.02.1980 in Zwickau

Erster Gutachter: Prof. Dr. Gustav Jirikowski, Institut für Anatomie I, FSU-Jena

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. K.-J. Bär, Klinik für Psychiatrie, FSU-Jena

Dritter Gutachter: Prof. Dr. Wolfgang Sommer, NIH, Bethesda, USA

Tag der öffentlichen Verteidigung: 04.11.2008

## Abkürzungsverzeichnis

***	p < 0.001
*?	deutliche Tendenz
5HT3-Rezeptor	Serotoninrezeptor
Abb.	Abbildung
Bup.	Buprenorphin
cAMP	cyclisches Adenosin-Mono-Phosphat
Cl	Chlorid
d	Tag
EtOH	Ethanol/Alkohol
Fig.	Figur/Schema
FQ-NOP	Nociceptin/Orphanin Rezeptorsystem
GABA	Gamma-Aminobutyric acid/Gamma-Aminobuttersäure
Gi	G-Protein-gekoppelter Rezeptor
GIT	Gastrointestinaltrakt
Gy.	Gyrus
i.m.	intra muskulär
i.p.	intra peritoneal
i.v.	intra venös
Lsg.	Lösung
mg/kgKG	Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht
mGluR	metabotropic Glutamat Rezeptor
n.	Nummer
NAcc	Nucleus Accumbens
NaCl	Natrium-Chlorid
NBup.	Norbuprenorphin
Ncl.	Nucleus
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
ORL1	Opioid-Rezeptor-Like Typ 1
OVLT	Organum Vasculosum der Lamina Terminalis
p.o.	per os
S.	Seite
Sac	Saccharin

SEM	Standard Error of the Mean/Standardfehler
vs.	versus
v/v	Lösungen gemischt aus: Volumen mit Volumen
v/w	Lösungen gemischt aus: Volumen mit Masse (weight)
ZNS	Zentralnervensystem

## Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>I</b>
<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>III</b>
<b>1. Zusammenfassung.....</b>	<b>5</b>
<b>2. Einleitung.....</b>	<b>7</b>
<b>2.1. Limbisches System und abhängiges Verhalten.....</b>	<b>7</b>
2.1.1. <i>Anatomie und Physiologie des limbischen Kortex – Motivations-, Emotions- und Lernzentrum.....</i>	<i>7</i>
2.1.2. <i>Physiologie des Trinkverhaltens.....</i>	<i>10</i>
2.1.3. <i>Das Belohnungssystem des Gehirns – mesolimbischer Kortex .....</i>	<i>12</i>
2.1.3.1. <i>Ncl. Accumbens - Neuroanatomie .....</i>	<i>14</i>
2.1.3.2. <i>Alkoholismus – Definition und Diagnostik.....</i>	<i>16</i>
2.1.3.3. <i>Die Wirkung von Alkohol auf das mesolimbische System .....</i>	<i>18</i>
<b>2.2. Die Rolle des endogenen Opioidsystems bei der Alkoholabhängigkeit..</b>	<b>20</b>
2.2.1. <i>Funktionsweise und Wirkung .....</i>	<i>20</i>
2.2.2. <i>Opioidrezeptoren und deren Verteilung.....</i>	<i>20</i>
2.2.3. <i>Buprenorphin – partieller Opioid-Agonist-Antagonist .....</i>	<i>23</i>
2.2.4. <i>Opioidrezeptorantagonisten in der Alkoholsuchttherapie .....</i>	<i>25</i>
<b>2.3. Aspekte der Suchtforschung.....</b>	<b>26</b>
2.3.1. <i>Tiermodelle in der Suchtforschung.....</i>	<i>26</i>
2.3.2. <i>Bisherige Entwicklungen in der Alkoholsuchttherapie .....</i>	<i>27</i>
<b>3. Ziele der Arbeit und Fragestellung.....</b>	<b>29</b>
3.1. <i>Der gegenwärtige Kenntnisstand .....</i>	<i>29</i>
3.2. <i>Zielsetzung und Fragestellung .....</i>	<i>29</i>
<b>4. Material und Methoden .....</b>	<b>31</b>
4.1. <i>Versuchstiere .....</i>	<i>31</i>
4.2. <i>Medikamente .....</i>	<i>31</i>
4.3. <i>Versuchsaufbau – Operant Boxen für die Alkohol-Selbstaufnahme.....</i>	<i>31</i>
4.4. <i>Versuchsdurchführung .....</i>	<i>34</i>

4.4.1. Experiment 1 – Alkohol-Selbstaufnahme in Anwesenheit von Saccharin.	34
4.4.2. Experiment 2 – Alkohol-Selbstaufnahme in Abwesenheit von Saccharin.	35
4.5. statistische Auswertung der Daten .....	37
<b>5. Ergebnisse .....</b>	<b>38</b>
5.1. Experiment 1 – Das Trinkverhalten in Anwesenheit von Saccharin .....	38
5.1.1. Das Alkoholtrinkverhalten bei gesüßter Lösung .....	38
5.1.2. Das Wassertrinkverhalten bei gesüßter Lösung .....	40
5.2. Experiment 2 – Das Trinkverhalten in Abwesenheit von Saccharin .....	42
5.2.1. Das Alkoholtrinkverhalten .....	42
5.2.2. Das Wassertrinkverhalten .....	44
5.3. Verhaltensbeobachtungen .....	46
<b>6. Diskussion .....</b>	<b>47</b>
6.1. Allgemeines Trinkverhalten vs. Alkoholtrinkverhalten .....	49
6.2. Möglichkeiten und Probleme der klinischen Anwendung .....	53
<b>7. Schlussfolgerung .....</b>	<b>56</b>
<b>8. Literatur .....</b>	<b>58</b>
 <b>Anhang .....</b>	 <b>V</b>
Danksagung .....	V
Lebenslauf mit wissenschaftlichem Werdegang .....	VI
Ehrenwörtliche Erklärung .....	VII

## 1. Zusammenfassung

Das limbische System, verantwortlich für Motivation, Emotionen und Lernvorgänge, beinhaltet mit dem mesolimbischen Teil auch ein natürliches körpereigenes Belohnungszentrum. Dieses vermittelt positive Empfindungen bei Verhaltensweisen, die mit überlebenswichtigen Handlungen verknüpft sind. Zu diesen Verhaltensweisen gehören Essen und Trinken nach Empfindungen wie Hunger und Durst ebenso wie Fluchtmechanismen oder sexuelle Handlungen. Dieses körpereigene Belohnungssystem bietet die Grundlage für die Herausbildung von Suchterkrankungen.

An der Wirkung von Alkohol im Organismus sind unterschiedliche Transmittersysteme beteiligt, die jeweils unterschiedlichen Anteil an der Alkoholwirkung haben, je nach Menge und Zeitdauer des Konsums. Mittlerweile ist eine konstante Beteiligung des endogenen Opioidsystems sowohl bei der kurzzeitigen Alkoholaufnahme als auch der Alkoholsucht gesichert. Im klinischen Alltag wird bereits der nichtselektive Opioidantagonist Naltrexon zur Therapie von Alkoholsuchterkrankungen eingesetzt. Doch ist die Compliance aufgrund der Nebenwirkungen oft niedrig.

Aus der Therapie von Opioidsuchtpatienten zeigten Beobachtungen, dass auch Buprenorphin (Bup.) Auswirkungen auf das Alkoholtrinkverhalten haben kann. Als gemischter Opioid-Agonist-Antagonist wirkt Bup. als partieller Agonist an  $\mu$ -Rezeptoren und als Antagonist an  $\kappa$ -Rezeptoren.

Ziel dieser Arbeit war es im Tierversuch das Wirkungsprofil von Bup. direkt auf das Alkoholtrinkverhalten zu untersuchen. Dazu wurde für die 80 Wistar-Ratten eine Selbstverabreichungsprozedur verwendet, in der sie mittels einer operanten Versuchsbox im Zwei-Taster-Auswahlsystem, freiwillig zwischen Alkohol (10% v/v) und Wasser wählen konnten. Dabei waren die Trinklösungen einmal mit Saccharin (0.2% v/w) gesüßt worden und beim zweiten Experimentdurchgang ungesüßt.

Nach einer Trainingsphase von zwei bis drei Wochen und der Einstellung eines stabilen Alkoholtrinkpegels, wurden die Tiere in unterschiedlichen Gruppen mit unterschiedlichen Dosen von Bup. (0.03, 0.1, 0.3 und 1.5mg/kgKG i.p.) behandelt. Das darauf folgende Trinkverhalten wurde gemessen und miteinander verglichen.

Es zeigte sich durch Bup., unabhängig vom Saccharingehalt, eine deutliche Reduktion des Alkoholtrinkverhaltens. Bei gesüßter Lösung war sogar eine stark signifikante Verminderung des Alkoholkonsums zu erkennen. Ein dosisabhängiger Effekt wurde hierbei beobachtet. Des weiteren zeigten sich auch Auswirkungen auf das allgemeine Trinkverhalten. Bei der höchsten Dosis von Bup. (1.5mg/kgKG), wurde sowohl die Wasser- als auch die Alkoholaufnahme deutlich reduziert.

Dies zeigt zum Einen, dass Bup. seine Wirkung über mehrere Wege vermitteln kann und zum Anderen wird hier eine funktionelle Verbindung von zwei topographisch unterschiedlichen Gehirnregionen, dem des Trinkzentrums in der präoptischen Region und dem des mesolimbischen Systems mit besonderer Bedeutung des Ncl. Accumbens (NAcc), erkennbar.

Dass Bup. auch andere Rezeptorsysteme wie Nociceptin/Orphanin (FQ-NOP) oder Opioid-Rezeptor-Like-1 (ORL-1) Rezeptoren zu besetzen vermag, ist bereits bekannt und legt die Vermutung nahe, dass hier außer den klassischen Opioidrezeptoren auch solche Rezeptoren an der vielschichtigen Wirkung von Bup. beteiligt sein können. Dies lässt darauf schließen, dass Rezeptoren wie FQ-NOP oder ORL-1 in wichtigen Kernbereichen enthalten sein müssen, die mit der Kontrolle des Trinkmechanismus beauftragt sind.

Im Umkehrschluss könnte man auch zu der Aussage gelangen, dass auch die senkende Wirkung auf den Alkoholkonsum durch Bup. nicht durch die klassischen Opioidrezeptoren vermittelt wird, sondern durch Rezeptorsysteme wie FQ-NOP oder ORL-1. Diese würden sich dann innerhalb des mesolimbischen Systems und hierbei auch im NAcc finden lassen.

Weiterführende Studien sollten hier anknüpfen, um einerseits mögliche neue Rezeptorverteilungen zu überprüfen und andererseits die verhaltensphysiologischen Beobachtungen durch elektrophysiologische Studien genauer aufzuklären.

Das Potential von Bup. allein auf das Alkoholtrinkverhalten einzuwirken, bietet hierbei klinische Möglichkeiten. In Zukunft kann dies einen neuen therapeutischen Ansatz liefern, um Alkoholsuchtpatienten in ihrem Abstinenzbestreben zu unterstützen.

Probleme in der Form einer geeigneten Art und Weise der Wirkstoffapplikation, sowie im Besonderen auch ethische Fragen, auf Grund des zwar geringen, aber doch vorhandenen Suchtpotentials von Bup., müssen weiterhin diskutiert werden und lassen sich wohl nur von Fall zu Fall in der Praxis entscheiden.



## 2. Einleitung

### 2.1. Limbisches System und abhängiges Verhalten

#### 2.1.1. *Anatomie und Physiologie des limbischen Kortex – Motivations-, Emotions- und Lernzentrum*

Beim limbischen System handelt es sich nicht wie beim Gyrus präcentralis um ein genau definiertes Gebiet, sondern um die Zusammenfassung von funktionell miteinander in Verbindung stehenden, zentralnervösen Strukturen. Dieses Konstrukt hat sich bisher stetig erweitert, und wird in Zukunft wohl auch weiterhin verfeinert werden. Somit ist eine klare Definition oft nur schwer anzugeben (Kandel et al. 1991; Nakano 1998).

Aus der Idee heraus, eine ringförmige Struktur um den Hirnstamm herum zu charakterisieren, führte Paul Broca den Begriff des „Limbischen Lobus“ ein. Dieser Teil kann auch zum phylogenetisch primitiven Kortex gezählt werden (Broca 1878). James Papez diskutierte später das limbische System als anatomische Grundlage für das Gefühlsleben (Papez 1937).

Dieser Ring setzte sich zuerst zu großen Teilen aus dem Gyrus Cingulatus mit seinem fortführenden Anteil, dem Gyrus Subcallosus, und dem Gyrus Parahippocampales zusammen. Des Weiteren bildet auch der Hippocampus selbst, mit dem Gyrus Dentatus und dem Subiculum, einen weiteren wichtigen Anteil (Nieuwenhuys 1996).

Später erweiterte sich durch Paul McLean der Begriff des Limbischen Systems noch um die funktionellen Strukturen wie Teile des Hypothalamus, dem Septum, dem Ncl. Accumbens (NAcc) als Teil des Striatum, Regionen wie dem orbitofrontalen Kortex und dem Corpus amygdaloideum (MacLean 1949; Carlson 2001).

Somit lässt sich der limbische Kortex zusammenfassend gliedern in kortikale Anteile (Hippocampus mit Gyrus dentatus und dem Subiculum, Gyrus parahippocampalis, Gyrus cinguli, Teile des Riechkolbens [Bulbus olfaktorius]) und subkortikale Anteile

(Corpus amygdaloideum, Corpus mamillare, Nucleus septi [z.B. Ncl. Accumbens], Nucleus thalami anterior) (Trepel 2004).

Ebenso gehört noch der Fornix dazu, ein Weiterleitungsstrang, der die Verbindung zu den tieferliegenden subkortikalen Strukturen bildet (Olton et al. 1982; Sutherland und Rodriguez 1989).

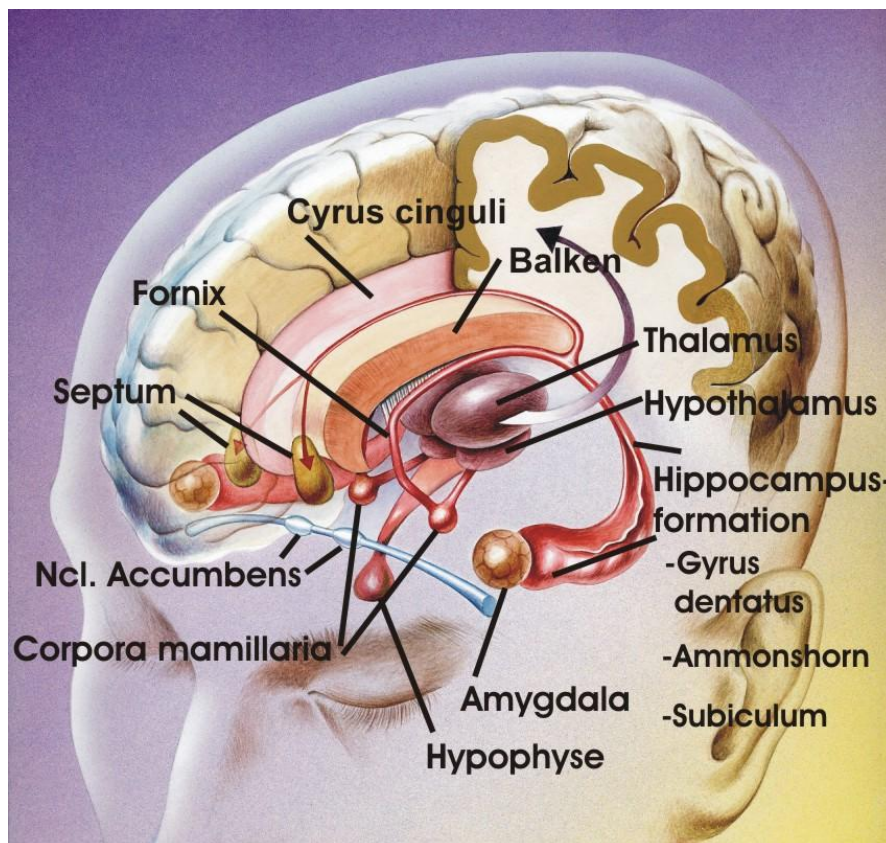
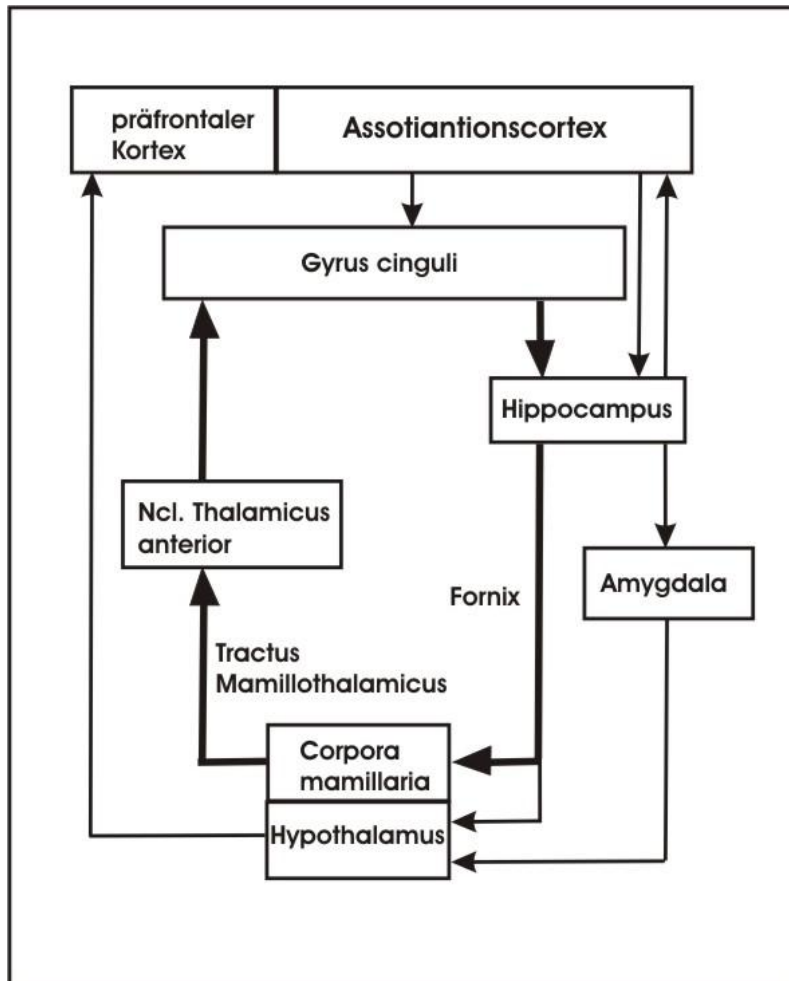


Abb.1: anatomische Strukturen des limbischen Systems (Kautzmann und Miketta 2001)

Strenge funktionelle Grenzen zwischen den einzelnen Gebieten existieren nicht, doch zeigen sich für einzelne Gebiete jeweils besondere Zugehörigkeiten. Sowohl der orbitofrontale Kortex als auch der Gyrus cinguli hängen stark mit dem emotionalen Verhalten zusammen (Joseph 1992). Im Temporallappen werden ebenfalls wichtige Emotionen, wie z.B. "Angst" im Bereich der Amygdala, verarbeitet und hervorgerufen (Pratt 1992). Zu einem weiteren wichtigen Teil befassen sich diese Gebiete mit den Gedächtnisfunktionen des Lebewesens (Keane et al. 1995).

Ein erstes Teilstück der Emotionsverarbeitung beschrieb Papez bereits mit dem nach ihm benannten Neuronenkreis (siehe Kasten1 – dicke Linien) (Papez 1995). Vom

Hippocampus ausgehend, so seine These, gelangen Signale über Subiculum und Fornix zu den Corpora mamillaria, danach mittels Tractus mamillothalamicus zu den Nuclei anteriores thalami und zum Schluss zum Gyrus cinguli. Von hier aus gibt es dann wieder Rückkopplungen zu Hippocampus und anderen Hirnregionen (Kandel et al. 1991).



Kasten1: Neuronenkreislauf im limbischen System (Kandel et al. 1991)

Im Laufe der Zeit erweiterten sich die Strukturen (siehe Kasten1 – dünnen Linien) um wichtige Elemente, wie z.B. die Amygdala, die als ein Schlüsselzentrum reziprok mit dem Neokortex, über den Hypothalamus mit dem präfrontalen Kortex und mit dem Hippocampus und Hirnstamm verbunden ist (Snider und Maiti 1976).

Hier werden subjektive Empfindungen mit somatischen und vegetativen Abläufen in Verbindung gebracht, um eine kontextbezogene Planung und Gedächtnisleistung zu ermöglichen (Wiener et al. 2002).

Ein Bericht von Bailey und Bremer aus dem Jahre 1921 beschreibt erstmals einen Zusammenhang zwischen Teilen des limbischen Systems und dem Trinkverhalten (Bailey und Bremer 1921). Nach Schädigung hypothalamischer Strukturen trat eine primäre Polydipsie auf. Später wurden diese Beobachtungen bestätigt, indem direkte elektrische Stimulationen im Bereich des Fornix ein immenses Trinkverhalten auslösten (Andersson und McCann 1955) und ebenso Läsionen an der Amygdala einen Einfluss auf die Wasseraufnahme zeigten (Rolls und Rolls 1973).

Des weiteren entsteht mit der Linderung des Durstgefühls durch den Trinkakt ein sehr angenehmes Gefühl für das Individuum, was wiederum die enge Beziehung zum Belohnungssystem des limbischen Systems deutlich macht (Blake et al. 1987). Als ein Knotenpunkt für Abläufe von Durst und Trinkakt wird hier das limbische System und mit ihm vor allem die Septumregion diskutiert (Harvey und Hunt 1965).

Das Limbische System kann somit als zentrales Bewertungssystem verstanden werden, in dem unbewusst Emotionen und Gedächtnisinhalte miteinander verarbeitet werden (Liberzon et al. 2000).

### *2.1.2. Physiologie des Trinkverhaltens*

Dem Trinkverhalten liegt die Empfindung eines Durstgefühls zugrunde, wobei sich drei Arten des Durstes unterscheiden lassen. Der osmotische, der volumetrische und der nahrungsassoziierte Durst (Johnson und Johnson 1997). Allesamt münden in den selben Mechanismus, der seinen Ursprung vom medialen präoptischen Kern in der Nähe der anterioren Kommissur nimmt und im Trinkakt endet. Ein fließender Übergang zwischen den einzelnen Regelkreisen zeigt die Komplexität dieses Verhaltensmusters (Carlson 2001).

Der osmotische Durst wird durch eine steigende Blutplasmakonzentration ausgelöst. Das dadurch steigende Konzentrationsgefälle entzieht den Körperzellen Wasser, worauf diese zu schrumpfen beginnen. Unterliegen nun Nervenzellen aus dem Organum Vasculosum der Lamina Terminalis (OVLT), nahe des anteroventralen Hypothalamus und des dritten Ventrikels, diesem Schrumpfungsprozess, so ändert

sich die Signalgebung an den medialen Nucleus präopticus (Verney 1947; McKinley et al. 2004).

Durst, der durch einen Volumenmangel hervorgerufen wird, wird über Rezeptoren in der Niere und dem Herzvorhof registriert. In der Niere wird eine Abnahme des Blutflusses registriert, worauf Zellen des juxtaglomerulären Apparates das Enzym Renin freisetzen (Bariess und Kracht 1969; Taugner et al. 1986). Renin wiederum katalysiert die Konversion von Angiotensinogen in Angiotensin I, welches durch ein weiteres Enzym auf schnelle Weise in Angiotensin II umgewandelt wird. Das nun in der Blutbahn zirkulierende Angiotensin II ist die aktive Form, mit einer Vielzahl physiologischer Effekte (Evered und Robinson 1984). Dazu gehören die Aldosteron- bzw. Vasopressinsekretion, Vasokonstriktion und Durst. Der Trinkmechanismus wird aktiviert, indem Angiotensin II direkt Neurone im subfornicalen Organ, in der Wand des dritten Ventrikels stimuliert. Diese Neurone senden ihrerseits wiederum Signale an den medialen präoptischen Kern (Kadekaro et al. 1989).

Im Herzvorhof registrieren Barorezeptoren den Druckabfall in der Blutstrombahn und melden dies an den in der Medulla oblongata liegenden Ncl. tractus solitarius. Von hier ausgehend laufen Signale wieder zur präoptischen Region (Fitzsimons und Moore-Gillon 1980).

Als dritte Durstart existiert der nahrungsassoziierte Durst unter Vorwegnahme eines akuten Bedürfnisses (de Castro 1988; Kraly 1990). Hierbei werden durch die Nahrungsaufnahme Osmorezeptoren in Magen und Duodenum aktiviert, die dort eine steigende Konzentration messen noch bevor sich osmotische Veränderungen im Blutplasma einstellen (Kraly et al. 1995). Dieses Signal wird über vagale Afferenzen weitergeleitet an den Ncl. tractus solitarius in der Medulla Oblongata, der wiederum in Verbindung mit dem medialen präoptischen Kern steht (Yuan und Barber 1992).

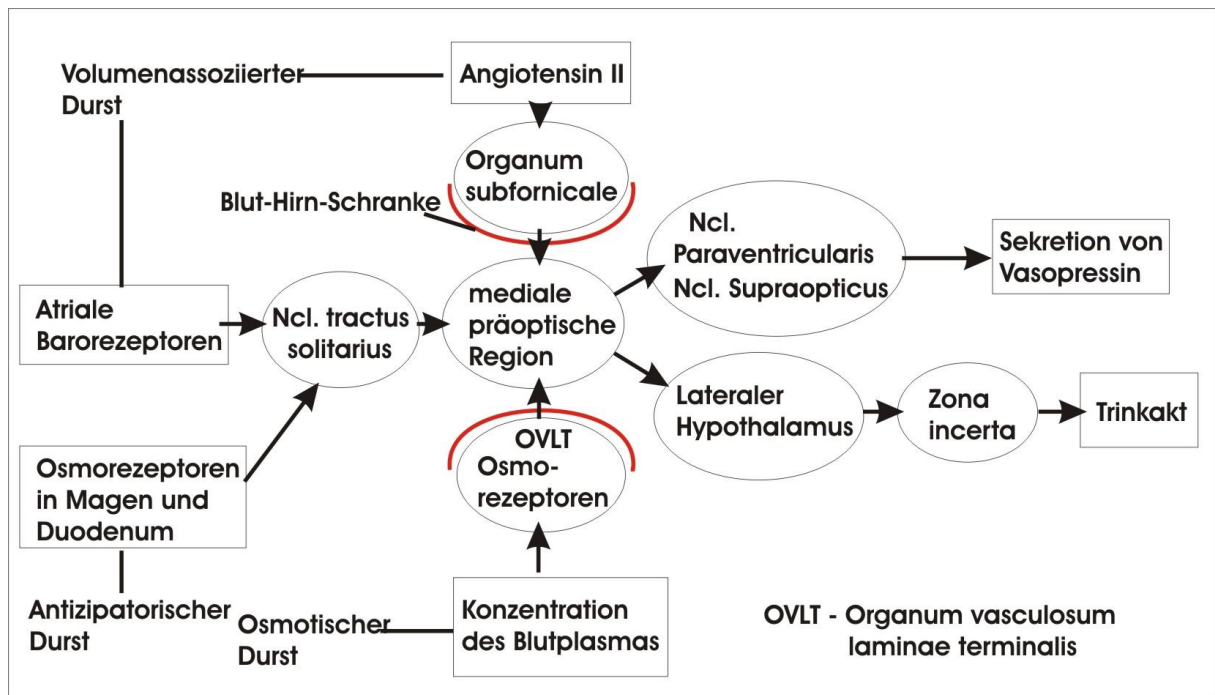


Fig.1: Der neuronale Kreislauf zur Kontrolle des Trinkverhaltens (Carlson 2001)

Vom medialen präoptischen Kern gehen Nervenbahnen zur Zona incerta im lateralen Hypothalamus. Dieser Bereich ist eine längliche Schicht grauer Substanz an der Thalamusunterseite und strahlt in den Thalamus und das zentrale Höhlengrau ein. Von der Zona incerta ausgehend werden die Motoren für den Trinkmechanismus aktiviert, die letztlich zum Trinkakt führen (Huang und Mogenson 1972; Walsh und Grossman 1978).

Andererseits gehen Signale ebenfalls an den paraventriculären Nucleus und den supraoptischen Nucleus im Hypothalamus, die eine vermehrte Synthese und Ausschüttung von Vasopressin zur Folge haben, wodurch eine verstärkte Wasserretention in den Nieren erfolgt (Tanaka et al. 1988; Bouby und Fernandes 2003).

All diese Mechanismen bewirken eine Aufrechterhaltung des Wasserhaushaltes im Organismus.

### 2.1.3. Das Belohnungssystem des Gehirns – mesolimbischer Kortex

Eine positive Gefühlsempfindung als Reaktion auf eine spezifische Handlung, die auch als positive Verstärkung bezeichnet werden kann, findet sich als physiologische

Reaktion bei einer Vielzahl höherer Lebewesen. Dieses Belohnungssystem ist somit an einer Vielzahl von natürlichen Verhaltensmustern beteiligt (Vetulani 2001).

Besonders deutlich wird dies bei den Konstellationen wie Hunger und Durst mit der Nahrungs- und Wasseraufnahme, dem Sexualverhalten, aggressivem Verhalten (Berkowitz 1974) u.v.m..

Eher zufällig fanden James Olds und Peter Milner in den fünfziger Jahren (1954) bei Versuchen an Ratten heraus, dass das Gehirn über ein internes Belohnungssystem verfügt (Olds und Milner 1954). Olds und Milner hatten Ratten in bestimmte Gehirnregionen permanent Elektroden implantiert. Der Schalter zur Auslösung eines milden Reizstroms durch diese Elektroden wurde im Käfig der Ratten untergebracht. Nach einer Weile stellten die Experimentatoren fest, dass die Ratten selbständig immer wieder (manche über 700 mal pro Stunde) zu diesem Schalter liefen und ihn drückten, woraus geschlossen werden kann, dass die Reizströme ihnen angenehme Empfindungen bescherten. Erst eine Stromkreisunterbrechung von außen führte dazu, dass die Ratten sich nach einigen erfolglosen Versuchen der Selbststimulation schlafen legten (Kornetsky 1979).

Mittlerweile zeigte sich, dass alle natürlichen Verstärker einen gemeinsamen physiologischen Effekt auslösen, der in der Dopaminausschüttung im NAcc liegt (Salamone et al. 2003). Allerdings ist dies nicht der einzige Effekt, der durch natürliche Verstärker ausgelöst werden kann und die ein positives Gefühlserlebnis bedingen (Peters et al. 2005).

Ein spezieller Teil innerhalb des limbischen Systems übernimmt diese Belohnungsfunktion und wird als mesolimbisches System bezeichnet (Koob und Swerdlow 1988). Beginnend in der Area tegmentalis ventralis ziehen dopaminerge Neurone durch das mediale Vorderhirnbündel zur Amygdala, dem lateralen Septum, Teilen der Stria terminalis, dem Hippocampus bis zum NAcc. Im NAcc kommt es unter anderem dann zu einer Dopaminausschüttung, die für das belohnende Gefühlserlebnis verantwortlich ist (White 1996; Carlson 2001).

Das dopaminerge System spielt innerhalb dieses Belohnungssystems eine große Rolle. Allerdings zeigte sich durch Forschungen der letzten Jahre, dass auch andere Neurotransmitter einen beträchtlichen Anteil an den Belohnungsprozessen haben

(Kelley und Berridge 2002). Zu diesen gehören Serotonin (Faerber et al. 2007), Glutamat (Koob 2000), GABA (Steffensen et al. 2001), NMDA (Westerink et al. 1997) und auch endogene Opiode (Van Ree et al. 2000).

Der Begriff der "negativen Verstärkung" kann verstanden werden als eine Belohnung auf ein Verhalten, das einen aversiven Reiz reduziert oder aufhebt. Dies stellt eine sehr nützliche, natürliche Verhaltensweise dar (Iwata 1987). Im Rahmen von Suchterkrankungen spielt sie hier ebenfalls eine starke Rolle, insbesondere wenn es durch chronischen Missbrauch zu psychischen wie physischen Entzugssymptomen kommt (Baker et al. 2004).

Mit "Bestrafung", im Sinne einer schmerzvollen Erfahrung auf eine spezifische Aktion (z.B. eine Verbrennung nach berühren der Herdplatte), darf dies nicht verwechselt werden (Carlson 2001).

#### 2.1.3.1. Ncl. Accumbens - Neuroanatomie

Der NAcc nimmt innerhalb des mesolimbischen Systems eine besondere Rolle ein und ist auch noch wegen seiner topographischen Beziehung zum medial angrenzenden Septum unter dem Namen NAcc septi bekannt (Trepel 2004). Er bildet sich aus Neuronen, die im Bereich des Striatums, im basalen Vorderhirn, liegen. Dort geht er aus den basalen Anteilen von Putamen und Ncl. Caudatus hervor, wobei sich eine Kernregion von einer Schalenregion differenzieren lässt. Einige Autoren unterscheiden zudem noch eine Polregion, die sich im Bereich der "Umschlagfalte" vom Putamen zum Ncl. Caudatus befindet (Zahm und Heimer 1993).

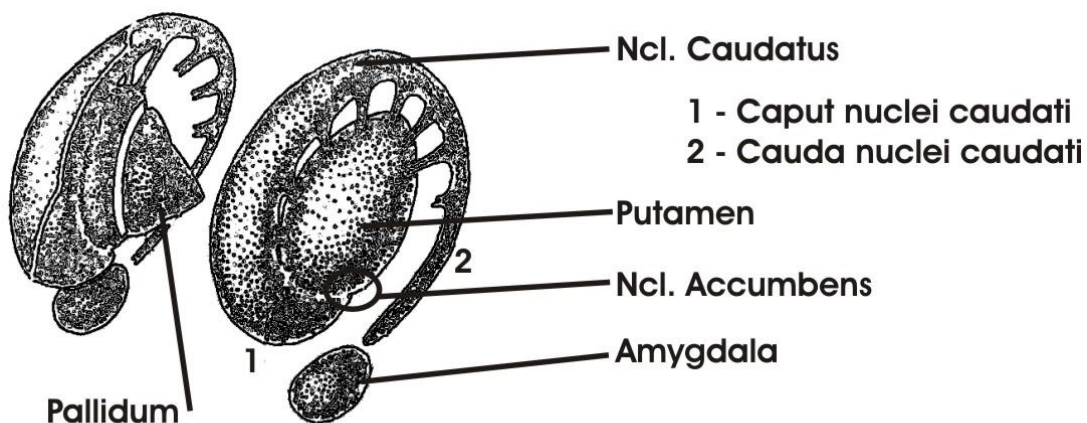


Abb. 2: Striatum mit Ncl. Accumbens (Trepel 2004)



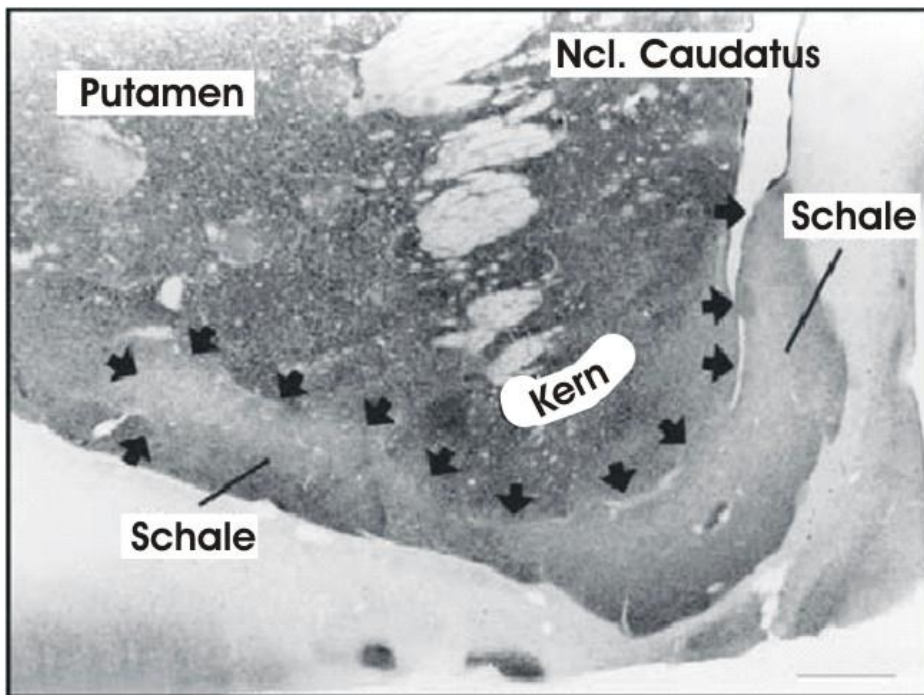


Abb.3: mikroskopische Aufnahme des NAcc mit seinem Kern- und Schalenanteil (Meredith et al. 1996; Heimer und Van Hoesen 2006)

Von hier ausgehend lassen sich vielfältige afferente wie efferente Verbindungen finden. Kern und Schale des NAcc weisen hierbei interessanterweise unterschiedliche efferente Projektionen auf (Heimer et al. 1991).

Die zuführenden nervalen Verbindungen, sowohl für den Kern als auch für die Schalenregion, kommen vor allem aus dem präfrontalen Assoziationscortex, der basolateralen Amygdala, dem Subiculum aus dem Hippocampus und über die mesolimbische Leitungsbahn mit dopaminergen Neuronen der Area tegmentalis ventralis (Zahn und Heimer 1993).

Eine wichtige herausführende Projektion der Kernregion des NAcc erfolgt über das ventrale Pallidum und von hier wiederum zum mediodorsalen Kern des hinteren Thalamusgebietes, der seinerseits wieder mit dem präfrontalen Cortex in Verbindung steht. Weitere Efferenzen aus dem NAcc zeigen Verbindungen zur Substantia nigra und zur Formatio reticularis (Koob et al. 1991).

Eine besondere Efferenz allein aus der Schalenregion erfolgt zum lateralen Hypothalamus und zur präoptischen Region (Numan et al. 2005).

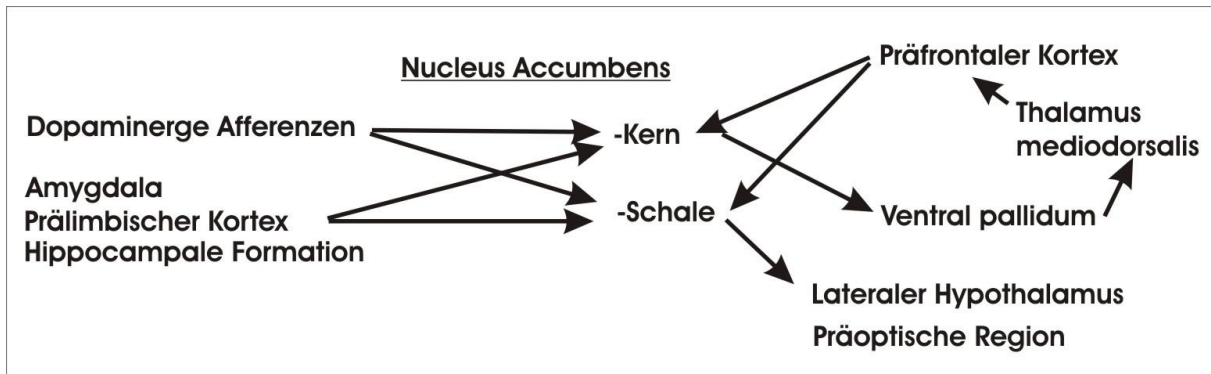


Fig.2: Schema der efferenten und afferenten Projektionen des NAcc (abgewandelt aus Zigmond et al. 1999)

Somit erfolgt gewissermaßen im NAcc eine Umschaltung von eingehenden Informationen aus limbischen Kernen über ausführende Leitungen hin zu den Basalganglien. Da diese im Wesentlichen auch als extrapyramidal motorische Kerne gesehen werden, kommt dem NAcc auf diese Weise auch die Funktion einer limbisch motorischen Schnittstelle zu (Powell und Leman 1976).

All diese neuronalen Verknüpfungen zusammen bilden ein komplexes Netzwerk, welches eine besondere Stellung in Prozessen einnimmt, die sich mit Emotionen und Lernvorgängen befassen (Kelley et al. 2005). Über den Thalamus stehen diese dann wiederum mit dem Bewusstsein in Kontakt (Brunia 2001).

#### 2.1.3.2. Alkoholismus – Definition und Diagnostik

Substanzabhängiges Verhalten zeigt typische Charakteristika wie den Kontrollverlust des Konsums, übermäßige und steigende Aufnahme der Substanz sowie die Ausprägung von Toleranz und Entzugssymptomen bei längeren Abstinenzphasen. Dies führt oft zu Minderungen in den sozialen und beruflichen Leistungen wie auch zur Verminderung von Lebensqualität (Koob 2003).

Beim Alkoholismus im Speziellen lassen sich alle diese Aspekte ebenfalls beobachten. Allerdings ist dies nur eine grobe Definition der Alkoholerkrankung selbst, die weitaus vielschichtiger ist.

### Substanzabhängigkeit (Alkoholabhängigkeit 303.90) nach DSM IV

Ein unangepasstes Muster von Substanzgebrauch führt in klinisch bedeutsamer Weise zu Beeinträchtigungen oder Leiden, wobei sich mindestens drei der folgenden Kriterien manifestieren, die zu irgendeiner Zeit in demselben Zwölf-Monats-Zeitraum auftreten:

- (1) Toleranzentwicklung, definiert durch eines der folgenden Kriterien:
  - (a) Verlangen nach ausgeprägter Dosissteigerung, um einen Intoxikationszustand oder erwünschten Effekt herbeizuführen.
  - (b) Deutlich verminderte Wirkung bei fortgesetzter Einnahme derselben Dosis
- (2) Entzugssymptome, die sich durch eines der folgenden Kriterien äußern:
  - (a) charakteristisches Entzugssyndrom der jeweiligen Substanz
  - (b) dieselbe (oder eine sehr ähnliche Substanz) wird eingenommen, um Entzugssymptome zu lindern oder zu vermeiden.
- (3) Die Substanz wird häufig in größeren Mengen oder länger als beabsichtigt eingenommen.
- (4) Anhaltender Wunsch oder erfolglose Versuche, den Substanzgebrauch zu verringern oder zu kontrollieren.
- (5) Es wird viel Zeit für Aktivitäten verwendet, um die Substanz zu beschaffen (z.B. mehrere Ärzte aufsuchen oder längere Strecken fahren), sie zu gebrauchen (z.B. Kettenrauchen) oder sich von den Effekten der Substanz zu erholen.
- (6) Wichtige soziale, berufliche oder Freizeitaktivitäten werden aufgrund des Substanzgebrauchs aufgegeben oder eingeschränkt.
- (7) Der Substanzgebrauch wird fortgesetzt, trotz Kenntnis eines anhaltenden oder wiederkehrenden körperlichen oder psychischen Problems, das wahrscheinlich durch den Substanzmissbrauch verursacht oder verstärkt wurde (z.B. Kokaingebrauch trotz erkannter kokaininduzierter Depression oder fortgesetztes Trinken trotz der Einsicht, dass ein Geschwür durch den Alkohol schlimmer geworden ist).

Kasten 2: Diagnosekriterien nach DSM IV (Winters et al. 1999)

Bei der vierten Ausgabe des DSM (Diagnostisches und Statistisches Handbuch Psychischer Störungen) zeigt sich wie viele Teilaspekte bei der Diagnosefindung momentan mit berücksichtigt werden. Von sieben Kriterien reichen hierbei drei aus, um eine Alkoholabhängigkeit zu diagnostizieren (American-Psychiatric-Association 1994).

Das bedeutet aber auch nichts anderes, als dass zwei Personen dieselbe Erkrankung zugeschrieben bekommen können, obwohl sie kein einziges Symptom gemeinsam haben (Heilig und Egli 2006).

Hinzu kommt eine schwierige Mischung aus physiologischen Eigenschaften (Toleranz und Entzugssymptome), Verhaltensauffälligkeiten (Kontrollverlust) und

sozialen Konsequenzen, die bei jedem Patienten individuell unterschiedlich gewichtet sein können. Dies zusammen macht eine homogene und einheitliche Standardtherapie unmöglich und zeigt, wie wichtig die Entwicklung unterschiedlicher Behandlungsansätze ist, um einer zukünftigen individuellen Alkoholsuchttherapie gerecht zu werden (Heilig und Egli 2006).

#### *2.1.3.3. Die Wirkung von Alkohol auf das mesolimbische System*

Die Aufnahme von Alkohol hat Auswirkungen auf den gesamten Organismus und unterschiedlichste Rezeptoren und Transmittersysteme, sowohl außerhalb als auch innerhalb des ZNS. Dies beeinflusst das Verhalten auf unterschiedlichste Art und Weise (Koob et al. 1994).

Einerseits wird eine milde Euphorie und ein anxiolytischer Effekt ausgelöst, die in dieser Kombination vermutlich einzigartig sind. Andererseits wird durch die Alkoholaufnahme der hemmende Effekt der sozialen Kontrolle auf das Verhalten je nach Menge gemindert bzw. aufgehoben. In diesem Zusammenhang mit "positiven" Erlebnissen für das Individuum, wird hier häufig der Begriff der positiven Verstärkung verwendet (Lewis 1996).

Wie auch bei anderen Rauschmitteln wird die positive Verstärkung, die durch das subjektive Hochgefühl (Euphorie) entsteht, auch bei Alkohol über eine gesteigerte Aktivierung dopaminerger Neurone im mesolimbischen System vermittelt. Diese steigern dadurch die Freisetzung von Dopamin im NAcc (Gessa et al. 1985; Imperato und Di Chiara 1986).

Alkohol vermag es weiterhin, im ZNS das stimulierende Glutamatsystem und das hemmende GABA-System zu beeinflussen (Chandler et al. 1998). Seine Wirkung beruht hierbei hauptsächlich auf einer Interaktion als indirekter Antagonist am NMDA-Rezeptor, welcher die Glutamatausschüttung vermindert und so die stimulierende Wirkung herabsetzt (Vengeliene et al. 2005).

Als indirekter Agonist am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor steigert Alkohol die Aktivität von GABA am GABA<sub>A</sub>-rezeptor, indem Cl-Kanäle geöffnet werden und somit zur gesteigerten Effektivität von GABA führen. Dadurch werden vermehrt hemmende postsynaptische Potentiale generiert (Breese et al. 1993).

Auf diese Weise werden innerhalb dieser beiden Transmittersysteme die hemmenden Signale verstärkt. Im Verhalten des Individuums spiegelt sich dies oft in Form von Sedierung, anxiolytischen und hypnotischen Effekten sowie den bekannten „blackout“-Symptomen wider (Crews et al. 1996).

Auf einem weiteren Weg vermittelt Alkohol ebenso die Ausschüttung endogener Opiode, die ihrerseits wiederum vielfältige Wirkungen vermitteln, zu denen unter anderem eine Art „Wohlgefühl“ bzw. eine milde Euphorie gehören (Gianoulakis 1993).

In der Phase des späteren chronischen Alkoholkonsums spielt das System der negativen Verstärkung eine zunehmend große Rolle. Zur Vermeidung der negativen Empfindungen, die entstehen, wenn über einen längeren Zeitraum kein Alkohol mehr zu sich genommen wurde, muss dieser nun in steigender Menge konsumiert werden. Dies macht nicht nur das Auftreten von Entzugssymptomen deutlich, sondern zeigt auch die Toleranzentwicklung gegenüber Alkohol (Gianoulakis 2001).

Diese vielfältigen Wirkungen durch den Konsum von Alkohol werden durch eine Vielzahl neurochemische Transmittersysteme vermittelt, die alle miteinander verzahnt sind. Diese umfassen GABA, Glutamat, Dopamin, Serotonin und endogene Opiode (Koob et al. 1998; Koob 2003).

Dabei können die einzelnen Systeme unterschiedlichen Anteil an der Vermittlung der Alkoholwirkung haben, je nachdem welche Menge an Alkohol die Person aufgenommen hat, und ob die Dauer des Alkoholkonsum nur kurzzeitig ist oder schon die chronische Phase erreicht hat. Interessant ist hierbei vor allem, dass der Anteil des endogenen Opioidsystems an der Vermittlung der Alkoholwirkung über die Zeit hinweg annähernd konstant bleibt (Koob et al. 1994).

## 2.2. Die Rolle des endogenen Opioidsystems bei der Alkoholabhängigkeit

### 2.2.1. Funktionsweise und Wirkung

Durch die Aufnahme von Alkohol kommt es einerseits zu einer Ausschüttung von Dopamin aus dem mesolimbischen System und andererseits zur Freisetzung körpereigener Opiode, die wiederum auch Dopamin freisetzen können (Herz 1997). Dies zusammen wiederum führt zu den intensiven positiven Verstärkungen, wie Wohlfühl und Euphorie, die für den späteren Drogenmissbrauch verantwortlich sein können (Gianoulakis und de Waele 1994; Gianoulakis 2004).

Die endogenen Opiode haben weiterhin ein vielfältiges Wirkungsspektrum. Einerseits können sie direkt über Opioidrezeptoren ihre Wirkungen entfalten. Andererseits zeigten einige Studien, dass über Opioidrezeptoren auch das NMDA-System mit beeinflusst werden kann (Martin et al. 1997; Hjelmstad und Fields 2001).

### 2.2.2. Opioidrezeptoren und deren Verteilung

Derzeit sind drei unterschiedliche Typen von Opioidrezeptoren bekannt - der  $\mu$  (my)-,  $\kappa$  (kappa)- und  $\delta$  (delta)-Rezeptor, wobei der  $\mu$ -Rezeptor noch in  $\mu_1$  und  $\mu_2$  unterteilt werden kann. Diese Rezeptoren vermögen einerseits ähnliche Effekte auszulösen wie bei der Schmerzhemmung, aber andererseits zeigen sich auch untereinander gewisse Unterschiede und Besonderheiten - besonders am  $\mu$ -Rezeptor. Abgesehen vom  $\mu_2$ -Rezeptor, der eine postsynaptische Lokalisation aufweist, zeigen die anderen Opioidrezeptoren eine präsynaptische Lokalisation (Estler 2000).

Alle Opioidrezeptoren bewirken über ein Gi-Protein eine cAMP-Senkung, die für die weiteren Effekte verantwortlich ist. Präsynaptisch wird somit der Calziumeinstrom gehemmt und damit auch die weitere Transmitterausschüttung vermindert (Liu et al. 1999; Ikeda et al. 2001). Dies bedingt die Effekte wie supraspinale ( $\mu_1$ ) und spinale ( $\mu_1$ ,  $\kappa$ ,  $\delta$ ) Analgesie, Atemsdepression, Sedation, Hypothermie, Euphorie (mittels Aktivierung dopaminerger Neurone in der Area tegmentalis ventralis bis hin zum NAcc), Miosis ( $\mu_1$  und  $\delta$ ) und physische Abhängigkeit ( $\mu_1$  und  $\delta$ ) (Forth et al. 1996).

Über den  $\mu_2$ -Rezeptor kommt es postsynaptisch durch einen steigenden Kalium-einstrom zu einer Hyperpolarisation und im Anschluss dann ebenfalls zu einer

Hemmung der Erregbarkeit. Atemdepression und Hemmung der gastrointestinalen Propulsivmotorik sind hierbei die Folge (Estler 2000).

Die passenden endogenen Opioidpeptide sind Dynorphin, Met- und Leu-Enkephaline sowie Endorphine, die aus den drei verschiedenen Precursormolekülen Proopiomelanocortin, Proenkephalin-A und Proenkephalin-B abgeleitet sind. Diese stehen alle in einer gewissen Affinität zu den einzelnen Rezeptortypen (Akil et al. 1984).

Die drei Opioidrezeptoren  $\mu$ ,  $\kappa$  und  $\delta$  sind die derzeit bekanntesten und best-untersuchtesten Rezeptoren des endogenen Opioidsystems. Ihre Verteilung im ZNS und in der Peripherie ist vielfältig, und es ist schwer genaue Angaben zu machen, besonders da einige Lokalisationen momentan noch umstritten sind (Bodnar und Hadjimarkou 2002; Bodnar 2007). Allerdings konnten innerhalb der letzten Jahrzehnte auch eine Vielzahl an Rezeptorlokalisationen durch unterschiedliche Studien sicher nachgewiesen werden (Besse et al. 1990).

Der  $\mu$ -Rezeptor findet sich in sehr hoher Dichte in den meisten Teilen des Thalamus, dem Locus ceruleus und der periaqueduktalen grauen Substanz. In etwas geringerer Dichte aber dafür durchgängig im Hirnstamm und dem Striatum (mit NAcc, Ncl. Caudatus, Putamen und Pallidum), dem Septum, Hippocampus, olfaktorischen Kortex und außer dem basolateralen Anteil in der gesamten Amygdala. Im Hypothalamus befinden sich  $\mu$ -Rezeptoren vor allem im Ncl. suprachiasmaticus, Ncl. supraopticus, Ncl. dorsomedialis, Ncl. hypothalamicus posterius und in der medialen präoptischen Region.

Das Rückenmark, die dorsalen Basalganglien, der Tractus solitarius, Ncl ambiguus, gracilis und cuneatus sowie Teile des Nervus vagus enthalten ebenfalls  $\mu$ -Rezeptoren (George et al. 1994; Ding et al. 1996).

Die höchste  $\kappa$ -Rezeptorendichte findet sich im Hippocampus (mit Ammonshorn und Gyrus dentatus), im Striatum (NAcc, Ncl. Caudatus und Putamen), der Substantia nigra und im Bereich des Claustrum. In Thalamus (Ncl. paraventricularis, Ncl. parafascicularis) und Hypothalamus (Ncl. paraventricularis) finden sich auch noch einzelne Kerne mit sehr hoher  $\kappa$ -Rezeptorendichte.

Etwas geringer ist die Dichte an Rezeptoren im olfaktorischen Kortex und der Amygdala. Weiterhin finden sich im gesamten Hypothalamus  $\kappa$ -Rezeptoren,

allerdings in stark schwankender Ausprägung. Rückenmark, dorsale Basalganglien, der Tractus solitarius, die ventrale Area tegmentalis und die Raphekerne enthalten ebenfalls  $\kappa$ -Rezeptoren.

Thalamus und Septum verfügen hingegen über sehr wenige bis hin zu gar keinen Rezeptoren der  $\kappa$ -Gruppe (Maggi et al. 1989; George et al. 1994).

Die Anzahl an  $\delta$ -Rezeptoren ist am höchsten im Bereich des Allo- und Neocortex (motorischer wie sensorischer) sowie dem olfaktorischen Kortex. Hippocampus, Septum, Striatum (mit NAcc, Ncl. Caudatus und Putamen), Rückenmark und die dorsalen Basalganglien zeigen eine geringere aber durchgängige  $\delta$ -Rezeptorendichte (George et al. 1994; Cahill et al. 2001).

Hirnstamm, Amygdala, Thalamus und Hypothalamus weisen hingegen so gut wie gar keine  $\delta$ -Rezeptoren auf (George et al. 1994).

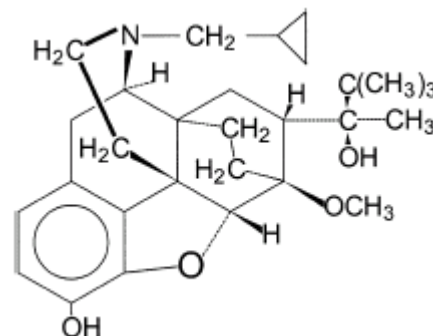
Auch wenn es mit dem Striatum, dem Rückenmark und den dorsalen Basalganglien Bereiche gibt, in denen alle drei Rezeptortypen vertreten sind, so zeigt sich aber dennoch sehr deutlich, wie einzigartig die Verteilungsstruktur und Dichte der einzelnen Rezeptorgruppen doch ist (George et al. 1994; Mansour et al. 1994).

Die eben beschriebenen Rezeptorverteilungen wurden am Rattengehirn nachgewiesen, was für die vorliegende Arbeit von entscheidender Bedeutung ist, da die Experimente zum Trinkverhalten ebenfalls an Ratten durchgeführt wurden. Nichtsdestotrotz zeigte sich bei nachfolgenden Untersuchungen zur Opioidrezeptorverteilungen im menschlichen Gehirn, dass für den menschlichen Organismus ein sehr ähnliches Verteilungsmuster gilt. Alle drei Opioidrezeptoren ( $\mu$ ,  $\kappa$  und  $\delta$ ) sind hier ebenfalls durchgängig im Striatum und Hippocampus vertreten. Die Rezeptoren vom  $\mu$ - und  $\kappa$ -Typ haben wieder ihre stärkste Konzentration im Thalamus, Hypothalamus und Rückenmark,  $\delta$ -Rezeptoren fehlen hier gänzlich. Dafür ist im Neocortex die  $\delta$ -Rezeptorendichte wieder besonders stark. Unterschiede zum Verteilungsmuster am Rattengehirn zeigen sich besonders bei der Verteilung der  $\kappa$ -Rezeptoren, die beim Menschen um einiges weiter verbreitet sind (Peckys und Landwehrmeyer 1999).



### 2.2.3. Buprenorphin – partieller Opioid-Agonist-Antagonist

Bup. ist als hoch lipophiler (Johnson et al. 2005) und semisynthetischer (Cowan 2003) Abkömmling des Opiats Thebain (Johnson et al. 2005) schon lange bekannt. Ein großer Anwendungsbereich befindet sich bereits im Bereich der Therapie mäßiger bis starker Schmerzen (Dahan et al. 2005). Als Subutex® ist es im Handel seit einigen Jahren auch zugelassen für die Therapie bei Opioidabhängigkeit (Vadivelu und Hines 2007).



Bei Untersuchungen zum Bindungsverhalten von Bup. zu den Rezeptorgruppen zeigte sich die erste Besonderheit in einer hohen Affinität am  $\mu$ - und  $\kappa$ -Rezeptor (Lewis 1985; Zanette et al. 1996), nicht aber am  $\delta$ -Rezeptor (Pick et al. 1997). Die nächste Besonderheit und das Einzigartige an Bup. ist die Eigenschaft, als ein und dieselbe Substanz sowohl einen leicht agonistischen als auch antagonistischen Effekt vermitteln zu können (Kajiwara et al. 1986).

Bei einer 10-40 mal höheren Rezeptoraffinität gegenüber Morphin zeigt Bup. partielle Agonisteneigenschaften am  $\mu$ -Rezeptor (Cowan et al. 1977). Das Besondere zeigte sich nun mit der Eigenschaft am  $\kappa$ -Rezeptor, denn hier wird im Gegensatz zum  $\mu$ -Rezeptor eine antagonistische Wirkung vermittelt (Leander 1987).

Über die  $\mu$ -Rezeptoren bewirkt Bup. supraspinale Analgesie, Atemdepression und Miosis (Johnson et al. 2005).

Bup. als ein Antagonist am  $\kappa$ -Rezeptor unterdrückt die durch  $\kappa$ -Agonisten ausgelösten Effekte wie spinale Analgesie, Dysphorie und psychomimetische Effekte (Leander 1987).

Auf Grund der hohen Bindungsaffinität von Bup. und seiner langsamen Rezeptor-dissoziation hält die Wirkung von Bup. sehr lange an, wodurch sich seine lange Halbwertszeit erklärt, auch wenn der Plasmaspiegel selbst schon absinkt (Elkader und Sproule 2005).

Die Pharmakokinetik von Bup. bedingt sich durch seine stark lipophilen Eigenschaften (Davis 2005) und die hohe Plasmaeiweißbindung von 96% (Oikkola et al.

1995). Hierbei bindet sich Bup. vor allem an alpha- und beta-Globuline (Johnson et al. 2005).

Nach oraler Gabe über den GIT ist die Bioverfügbarkeit von Bup., durch den starken First-Pass-Effekt der Leber, mit 10-16% sehr gering (Elkader und Sproule 2005). Andere Applikationsformen, die die Leber umgehen, besitzen somit eine bessere Bioverfügbarkeit. Eine fast 100%ige Bioverfügbarkeit wird nach i.v. und i.m. Applikation erreicht (Brewster et al. 1981).

Durch die hohe Lipophilie und das geringe Molekulargewicht besitzt Bup. die optimalen Eigenschaften zur transdermalen Applikation und lässt sich mittels unterschiedlicher Größen und Dosen bei den Pflastersystemen gut dosieren (Evans und Easthope 2003).

Über den sublingualen oder auch intranasalen Weg wird eine Bioverfügbarkeit von um die 50% erreicht (Lindhardt et al. 2000; Compton et al. 2006).

Die Elimination von Bup. geschieht sowohl über die Niere, als auch über die Leber. Da sich allerdings nur 10-30% von Bup. im Urin wiederfinden lassen (Elkader und Sproule 2005), kommt der Leber die größere Abbaufunktion zu, die auch hier auf unterschiedlichen Wegen stattfinden kann (Estler 2000).

Einerseits kann Bup. zu Norbuprenorphin (NBup.) demethyliert werden, das dann selbst noch einen gering aktiven Metaboliten darstellt (Ohtani et al. 1994). Da das Cytochrome-P-450-System innerhalb des Abbauzykluses ebenfalls eine beträchtliche Rolle spielt, kann es zur Beeinflussung des Bup.-Metabolismus kommen, wenn auch andere Pharmaka über diesen Weg abgebaut werden (Johnson et al. 2005).

Andererseits lassen sich Bup. und NBup. in der Leber auch über den Weg der Glukuronidierung in das entsprechende Glukuronid umwandeln, das dann über die Galle mit dem Stuhl ausgeschieden werden kann (Huang et al. 2006). Dabei werden etwa 70% von Bup. über diesen Weg eliminiert, wobei das gleichzeitige Vorliegen eines enterohepatischen Kreislaufes zwar vorhanden, aber nicht störend ist (Escher et al. 2007).

Mit seiner nur partiellen agonistischen Wirkung am  $\mu$ -Rezeptor zeigt Bup. in der Anwendung eine höhere Sicherheit als Verbindungen mit rein agonistischer  $\mu$ -Rezeptorwirkung, was sich sehr deutlich auch bei den geringeren allgemeinen Nebenwirkungen zeigt, wie z.B. der respiratorischen Depression, die in der klinischen Praxis kaum beobachtet wird (Khan et al. 2002; Johnson et al. 2003).

Für Bup. ist jedoch auch ein gewisses Missbrauchspotential beschrieben, das zu physischer Abhängigkeit (Hakansson et al. 2007) und in sehr seltenen Abususfällen in Kombination mit Benzodiazepinen sogar zum Tod führen kann (Reynaud et al. 1998). Dieses Potential ist aufgrund der partiellen agonistischen gemischt mit einer antagonistischen Opioidwirkung allerdings weitaus geringer als das von Morphin und ähnlichen Verbindungen, weshalb Bup. zu den sicheren Opioiden gezählt werden kann (Yassen et al. 2007).

#### *2.2.4. Opioidrezeptorantagonisten in der Alkoholsuchttherapie*

Unspezifische wie auch spezifische Opioidrezeptorantagonisten zeigten schon früh bei Tierversuchen ein hohes Potential, den Alkoholkonsum zu reduzieren (O'Malley 1996).

Naltrexone als unspezifischer Opioidrezeptorantagonist hat sich bereits in der Alkoholsuchttherapie der letzten Jahre bewährt (Volpicelli et al. 1992; Jaffe et al. 1996). Das Verlangen nach Alkohol, wie auch der Konsum und letztendlich auch die Rückfallquoten lassen sich hierbei stark reduzieren, wenn Naltrexone noch unterstützend mit einer Verhaltenstherapie kombiniert wird (O'Malley 1996).

Allerdings ist die Compliance bei vielen Patienten, die Naltrexone über einen längeren Zeitraum nehmen, recht niedrig. Dies dürfte vor allem an den relativ häufigen Nebenwirkungen wie Übelkeit, Kopfscherzen, Benommenheit und Gelenkschmerzen liegen (Ciraulo et al. 1997).

## 2.3. Aspekte der Suchtforschung

### 2.3.1. Tiermodelle in der Suchtforschung

Bei der Erforschung des Suchtverhaltens ist es von entscheidender Bedeutung, dass das Konsumverhalten und die Rahmenbedingungen der Versuchstiere sich zu denen von Suchtpatienten so ähnlich wie nur möglich gestalten (Spanagel 2003).

Dabei wird besonders darauf geachtet, dass den Tieren ein freiwilliger Zugang zur Substanz, diesem Falle Alkohol, gewährt wird. Hinzu kommt ein regelmäßiger aber limitierter Zeitraum, in dem es zur Alkoholaufnahme kommen kann (Koob und Weiss 1990). In diesem Zusammenhang haben sich mehrere Tierversuchsmodelle entwickelt, die unterschiedliche Schwerpunkte berücksichtigen können (Koob 2000).

Eine zuverlässige Methode in Form eines oralen Operant-Selbst-Aufnahme-Modelles wurde von Samson bereits 1985 entwickelt (Samson et al. 1988; Samson und Grant 1990). Hierbei können die Versuchstiere in einer speziellen Versuchsbox über zwei unterschiedliche Taster zwei unterschiedliche Flüssigkeiten zu trinken bekommen. Durch die genau definierte Mengenabgabe pro Tasterbetätigung und die Registrierung der Gesamtanzahl an Tasterbetätigungen, lässt sich die genaue Konsummenge der Flüssigkeiten nachvollziehen.

Je nach Versuchsziel können hier nun die Flüssigkeiten stufenweise einschleichend oder ausschleichend mit gewünschten Konzentrationen von Alkohol und/oder einem Süßstoff versetzt werden.

Dabei hat es sich als besonders vorteilhaft erwiesen, die Alkohollösungen mit einer süßen Lösung zu kombinieren, um den aversiven Geschmack des Alkoholes zu überwinden. Somit kann sichergestellt werden, dass die Versuchstiere in der Anfangsphase eine ausreichend große Menge an Alkohol konsumieren, um abhängiges Verhalten zu entwickeln. Nach der Eingewöhnungsphase kann die süße Lösung wieder schrittweise herausgenommen werden (Samson 1986).

Normale Wistar-Ratten können auf diese Weise verlässlich zur Alkoholaufnahme trainiert werden. Bei täglichen Sitzungen mit 30-60 minütigem Zugang zur Droge, lassen sich sichere Blutalkoholspiegel im Bereich von 40-60mg% erreichen (Weiss et al. 1990; Rassnick et al. 1993).

### *2.3.2. Bisherige Entwicklungen in der Alkoholsuchttherapie*

Bei der Therapie der Alkoholsucht ist neben einer psychologischen Verhaltenstherapie auch ein medikamentöses Eingreifen oft unumgänglich. Dieses richtet sich in erster Linie nach den Symptomen, die je nach Phase gerade betroffen sind und somit unterschiedliche Angriffspunkte klassifizieren (Jaffe et al. 1996).

In der Frühphase der Alkoholsuchterkrankung ist vorwiegend das System der positiven Verstärkung betroffen, wobei hier allerdings oft noch keine Krankheitseinsicht vorhanden ist, und es hierbei nur selten zu einer Form der Therapie kommt. Bei chronischem Konsum steht das System der negativen Verstärkung im Vordergrund, das vor allem mit der Linderung und Vermeidung von Entzugssymptomen zusammenhängt (Lewis 1990).

Der Übergang zwischen diesen Phasen ist oft schleichend und macht es somit schwer, eine adäquate Therapie zu finden.

Innerhalb der Alkoholabhängigkeit gilt die Rückfallgefahr als besonders hoch, vielschichtig und schwierig einzuschätzen. Hierbei können drei Kategorien von Auslösefaktoren genannt werden.

Im ersten Falle kann ein Rückfall durch eine kleine Anfangsdosis von Alkohol ausgelöst werden, wenn nach einer längeren Enthaltungsperiode der Irrglaube entstand, dass die Selbstkontrolle über den Alkoholkonsum wieder erreicht werden konnte.

Als einen zweiten Auslöser können (auch diskrete) Bedingungen betrachtet werden, die alkoholassoziierte Faktoren enthalten, wie sie zum Beispiel durch eine "kneipen-ähnliche Atmosphäre" entstehen können.

Der letzte Faktor ist Stress in seinen unterschiedlichsten Facetten und gilt dabei als ein besonders starker, vielleicht sogar der stärkste, Auslöser in Bezug auf das Rückfallverhalten (Heilig und Egli 2006).

Innerhalb der letzten Jahre entstanden mehrere Generationen an Medikamenten, die in der Alkoholsuchttherapie eingesetzt werden oder wurden (Heilig und Egli 2006).

Die erste Generation an Therapeutika waren Aldehyddehydrogenaseblocker (Disulfiram), Opioidantagonisten wie Naltrexone und Glutamatantagonisten zu denen Acamprosat zählt (Kreek et al. 2002).

Darauf folgte eine zweite Generation an Medikamenten zu denen 5HT<sub>3</sub>-Antagonisten (Ondansetron), GABA-B Agonisten (Baclofen) und Antikonvulsiva wie Topiramate gehören (Kenna et al. 2004).

Noch in der Entwicklung und derzeit in Stadien des Tierversuches befinden sich Verbindungen, deren Angriffspunkte der Cannabinoid-Rezeptor ist, oder Rezeptoren, die die glutaminerge Übertragung beeinflussen (mGluR 2,3,5). Ebenso sind Rezeptoren, die von stressabhängigen Neuropeptiden beeinflusst werden (Corticotropin Releasing Faktor, Neuropeptid Y, Nociceptin) und das endogene Opioidsystem (Bup.) Gegenstand vielseitiger Forschungen (Heilig und Egli 2006).

### **3. Ziele der Arbeit und Fragestellung**

#### **3.1. Der gegenwärtige Kenntnisstand**

Innerhalb vieler Studien der letzten Jahre zeigte sich eine beständige Beteiligung und auch wichtige Rolle des körpereigenen Opioidsystems bei der Entwicklung und Aufrechterhaltung der Alkoholsuchterkrankung (Herz 1997).

Anders als Dopamin, das einen besonders großen Anteil der positiven Alkoholkwirkung nur im Anfangsstadium aufweist, bleibt der Anteil der endogenen Opioiden über die Zeit hinweg, von der akuten bis in die Phase des chronischen Konsums, konstant (Koob et al. 1994). Somit zeigt sich hier ein interessanter therapeutischer Angriffspunkt, der wachsende Bedeutung für die Behandlung der Alkoholsucht erlangen kann.

Der reine Opioidantagonist Naloxone wird in dieser Hinsicht schon seit einiger Zeit erfolgreich in der Klinik eingesetzt (O'Malley 1996).

Die drei unterschiedlichen Opioidrezeptortypen  $\mu$ ,  $\kappa$  und  $\delta$  bedingen jeweils unterschiedliche Wirkungen. Somit kann eine partielle Aktivierung und Hemmung dieser Rezeptoren das Belohnungssystem sehr variabel beeinflussen (Estler 2000).

Bup. ist bisher ein sehr zuverlässiges Medikament in der Therapie von Opioidsucht wie z.B. Heroin (Stock und Shum 2004; Sung und Conry 2006).

Im Rahmen solcher Studien zeigten sich bemerkenswerte Beobachtungen. Es fiel unter anderem auf, dass Patienten mit Heroinabhängigkeit während der Behandlung mit Bup. ein höheres Abstinenzverhalten gegenüber Alkohol zeigten als jene Suchtpatienten, die eine andere Therapie erhalten hatten. Dies kann als ein geringeres Verlangen nach Alkohol gedeutet werden (Kakko et al. 2003).

Dieser Sachverhalt erregte das dieser Arbeit zugrunde liegende Interesse, dass weitere Wirkungsspektrum von Bup. genauer zu untersuchen.

#### **3.2. Zielsetzung und Fragestellung**

Uns war es wichtig, mit der vorliegenden Studie der Möglichkeit eines neuen Therapieansatzes nachzugehen, der besonders in der Phase der chronischen Sucht-

erkrankung von Alkohol eingesetzt werden kann. Besonders in Hinsicht auf eine erweiterte Rückfallprophylaxe bietet ein partieller Agonist/Antagonist wie Bup. hier eventuell interessante Ansatzpunkte.

Die Beobachtungen des erhöhten Alkoholabstinenzverhaltens bei heroinabhängigen Patienten unter Bup.-Therapie warf die Frage auf, ob sich dieser Effekt speziell für das Alkoholtrinkverhalten objektivieren lässt. Dies ist von entscheidender Bedeutung, wenn der Gedanke an eine zusätzliche medikamentöse Therapie der Alkoholsucht weitergedacht werden soll (Kakko et al. 2003).

Des weiteren ist das bisher nur unzureichend erforschte Wirkungspotential von Bup. von großem Interesse. So stellte sich die Frage, ob es noch weitere Effekte gibt, die durch Bup. vermittelt werden und ob diese vielleicht sogar unabhängig vom endogenen Opioidsystem sind.

Die vorliegenden Experimente können helfen, die komplexen Interaktionen zwischen Alkohol und endogenem Opioidsystem besser zu verstehen. Langfristig könnten so die Mechanismen, die zu Alkoholismus führen, klarer werden und somit neue Behandlungsansätze ermöglichen.

Da sich die vorliegende Studie mit dem Alkoholtrinkverhalten im Speziellen wie auch mit dem generellen Trinkverhalten befasst, war der zeitlich limitierte aber doch freie Zugang zu den gewünschten trinkbaren Flüssigkeiten eine der wichtigsten Rahmenbedingungen bei unseren Versuchen.

Das verwendete Modell einer operanten Versuchsbox im Zwei-Taster-Auswahlsystem zur Alkohol-Selbstaufnahme erfüllt diese Bedingungen und erlaubt zudem eine genaue Beobachtung der von den Versuchstieren aufgenommenen Flüssigkeitsmengen.



## **4. Material und Methoden**

### **4.1. Versuchstiere**

Für unsere Versuche verwendeten wir 80 männliche Wistar-Ratten (Møllegaard, Dänemark, ~250g zu Beginn der Experimente). Für die Teilversuche wurden jeweils 40 Wistar Ratten benötigt. Diese wurden in Gruppen zu je vier Tieren in standardisierten Käfigen untergebracht. Umgebungstemperatur (20-24°C) und Luftfeuchtigkeit (~60%) lagen im Normbereich. Der künstliche Tag-Nacht-Zyklus wurde zum natürlichen Rhythmus entgegengesetzt eingestellt, so dass den Tieren ab 21 Uhr Tag und ab 9 Uhr Nacht simuliert wurde. Nahrung und Wasser waren uneingeschränkt für die Tiere verfügbar. Vor Beginn der Versuche wurde den Tieren, in Bezug auf die neue Umgebung, eine Eingewöhnungszeit von mindestens sieben Tagen gewährt. Alle Experimente wurden unter der ethischen Genehmigung S38/01 (Stockholm Süd) durchgeführt.

### **4.2. Medikamente**

In den zurückliegenden Experimenten wurde das Alkoholtrinkverhalten von Ratten in Bezug auf verschiedene Dosen einer Medikation mit Bup. beobachtet. Das Medikament selbst wurde über die Hausapotheke des Huddinge Universitätskrankenhauses/Stockholm bestellt. Bup. wurde mit NaCl auf die jeweilige Dosis verdünnt. Die jeweils benötigten Dosierungen wurden immer kurz vor Gebrauch hergestellt.

Aufgrund der langen Wirkungswegstrecke wurden die Bup.-Dosen 90 Minuten vor Beginn des eigentlichen Experimentes intra peritoneal (i.p.) appliziert. Dazu wurden die Versuchstiere am Nacken festgehalten und leicht überstreckt. Die Injektion erfolgte anschliessend in einen der unteren äußeren Quadranten des Abdomens.

### **4.3. Versuchsaufbau – Operant Boxen für die Alkohol-Selbstaufnahme**

Sowohl das Training als auch die Versuche mittels einer Alkohol-Selbstaufnahme-Prozedur wurden mit Hilfe von standardisierten Versuchsboxen durchgeführt (Med associates Inc., St Albans, VT, USA). Die Versuchsboxen unterschieden sich stark

von den Käfigen, in denen die Tiere außerhalb der Versuche untergebracht waren. Diese Boxen waren zusätzlich ausgestattet mit jeweils zwei Lampen in der Wand, die sich in Nähe der Türscharniere befanden. In der gegenüberliegenden Wand war eine Vertiefung mit zwei kleinen Trinkschalen eingebracht. Über ein Pumpsystem konnten hier zwei unterschiedliche Flüssigkeiten in jeweils genau festgelegte Trinkschalen verabreicht werden. Die zwei Taster (jeweils 5cm breit) befanden sich integriert an der selben Wand (7cm über dem Boden) je einer rechts und einer links von der Vertiefung mit den Trinkschalen. Wurde ein Taster betätigt, so wurde für die entsprechende Seite das Licht für drei Sekunden aktiviert. Zeitgleich wurden 100µl einer Flüssigkeit innerhalb von drei Sekunden über das Pumpsystem in die Schale der entsprechenden Seite gefüllt. Die Flüssigkeiten selbst wurden innerhalb des Pumpsystems in zwei separaten Spritzen aufbewahrt, die jeweils ein Volumen von 50ml fassen konnten.



Abb.4: Taster



Abb.5: Vertiefung mit zwei Trinkschalen

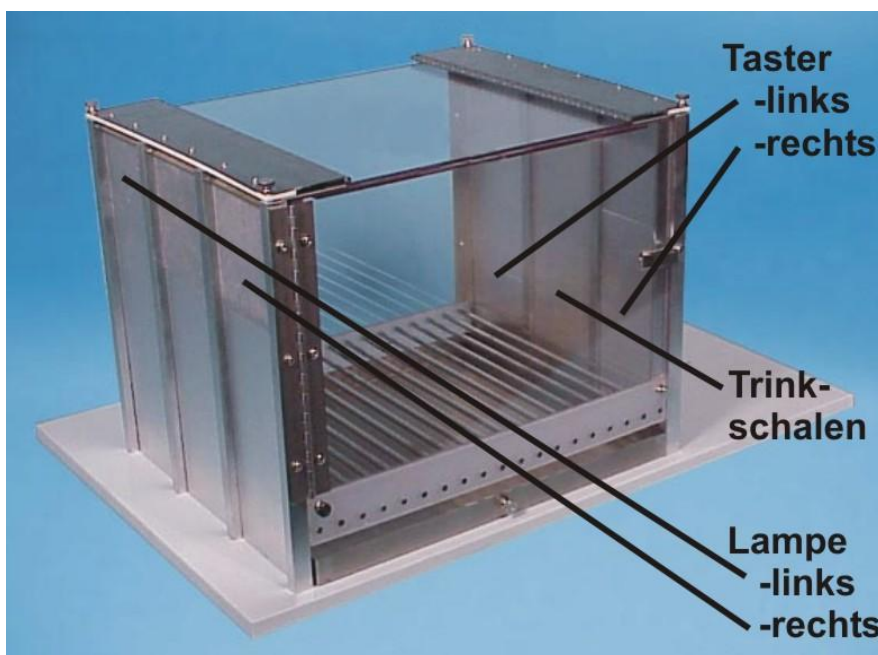


Abb.6: Versuchsbox mit Markierungen der hinzugefügten Einzelbauteile

Abb. 4 und 5 zeigen Einzelbauelemente, die dann in eine standardisierte Versuchsbbox (Abb.6) integriert wurden. Durch diese Erweiterungen konnte die spezialisierte Versuchsbbox für die Trinkversuche genutzt werden, bei denen ein Zwei-Taster-Auswahlmodell für die Alkohol-Selbstaufnahme gebraucht wurde (Weiss et al. 1990).

Insgesamt standen uns acht Versuchsbboxen zur Verfügung. Für die erste Hälfte der Versuchsbboxen (Nr. 1-4) befand sich Ethanol (EtOH) auf der linken Seite und eine Wasser bzw. Saccharinelösung auf der rechten Seite. Für die zweite Hälfte (Nr. 5-8) verhielt es sich genau seitenverkehrt, im Sinne einer gleichmäßigen Verteilung.

Bei acht Versuchsbboxen und 40 Versuchstieren, die für je ein Teilexperiment benötigt wurden, ergaben sich somit fünf Versuchsdurchläufe, um allen Tieren Zugang zur Versuchsaapparatur zu garantieren.

Ebenfalls zum Zweck einer gleichmäßigen Verteilung wurden die Versuchstiere innerhalb einer Trainingswoche in der Abfolge der Durchgangsreihenfolge nach einem bestimmt Schema gemischt. Montags begann somit das Training mit den Ratten 1-8 für den ersten Durchgang. Im zweiten Durchgang folgten die Tiere mit den Nummern 9-16 usw.. Dienstags wurde dann zuerst mit den Tieren 9-16 begonnen usw..

#### Durchgang:

Wochentag:	erster	zweiter	dritter	vierter	fünfter
Montag	1-8	9-16	17-24	25-32	33-40
Dienstag	9-16	17-24	25-32	33-40	1-8
Mittwoch	17-24	25-32	33-40	1-8	9-16
Donnerstag	25-32	33-40	1-8	9-16	17-24
Freitag	33-40	1-8	9-16	17-24	25-32

Die Kennzeichnung der Tiere erfolgte mittels Ziffern, die mit Permanentmarker an der Schwanzwurzel der Ratten aufgetragen wurden.

Die Versuchskammern wurden von einem speziellen Computersystem (Med-PC<sup>®</sup>, Med associates Inc., St Albans, VT, USA) gesteuert und alle erhobenen Daten automatisch gespeichert.

Mit den Versuchsbboxen konnte zeitgleich sowohl die Seite für den Alkoholkonsum als auch die Seite für den Wasserkonsum gemessen werden. Nach einer Applikation von

Bup., konnten somit die Auswirkungen für beide Seiten gleichzeitig registriert werden, was einen direkten Vergleich beider Trinkverhaltensmuster ermöglicht.

#### **4.4. Versuchsdurchführung**

Die zwei durchgeführten Experimente stehen miteinander in Verbindung und bauen auch aufeinander auf, so dass sie in gewisser Weise auch als ein einziges umfassendes Experiment betrachtet werden könnten.

##### *4.4.1. Experiment 1 – Alkohol-Selbstaufnahme in Anwesenheit von Saccharin*

Das erste Experiment zum Trinkverhalten wurde mit durch Saccharin (Sac) gesüßten Lösungen durchgeführt. Dies stellte sicher, dass ein ausreichender Lerneffekt erzielt wird, der in Zusammenhang mit Tasterbetätigung und Trinkmöglichkeit steht. Ausgehend von dem sich dadurch entwickelnden Basistrinkniveau, ließ sich das erste Experiment durchführen, bei dem eine Abweichung vom normalen Trinkverhalten untersucht werden sollte.

Der Tag-Nachtzyklus für die Versuchstiere wurde entgegen dem natürlichen Rhythmus gewählt. Die „Tagphase“ wurde von 21 Uhr bis 9 Uhr eingestellt. Sowohl das Training als auch die Experimente (9 Uhr bis ~14 Uhr) mit den Ratten wurden während der dementsprechenden „Nachtphase“ durchgeführt, die der natürlichen aktiven Phase von Nagetieren entspricht. Dazu wurden die Käfige, in denen je vier Ratten untergebracht waren, in den Versuchsraum gebracht. Hier wurden die Versuchstiere dann einzeln für jeweils 30 Minuten in eine Versuchsbox gegeben. In dieser Zeit war die Box aktiviert, wodurch die Tasterbetätigungen registriert und die entsprechenden Flüssigkeiten in die Trinkschalen gepumpt wurden.

##### *Trainingsprotokoll*

- d 1-3;            0.2%ige Saccharinlösung für beide Seiten
- d 4-10;          Taster 1: 0.2% Sac-Lsg., Taster 2: 5% EtOH in 0.2%iger Sac-Lsg.;
- d 11-13;        Taster 1: 0.2% Sac-Lsg., Taster 2: 8% EtOH in 0.2%iger Sac-Lsg.;
- d 14-;           Taster 1: 0.2% Sac-Lsg., Taster 2: 10% EtOH in 0.2%iger Sac-Lsg.

Den Versuchstieren wurde im Rahmen des Trainings ein Zeitraum von zwei Wochen gegeben. In dieser Zeit gewöhnten sie sich an die Versuchsboxen und erreichten ein stabiles Basisniveau im Trinkverhalten. Von hier ausgehend konnten wir mit dem eigentlichen Experiment beginnen (Samson 1986; Samson et al. 1988).

### *Experimentenprotokoll*

Alle Tiere mit einer ausreichenden Anzahl an Tasterbetätigungen ( $\geq 30$  Tasterbetätigungen innerhalb von 30 Minuten) für die Alkoholseite wurden ausgewählt und auf vier Experimentiergruppen verteilt ( $n \geq 8$ ).

Das Experiment wurde in einem wöchentlichen Rhythmus durchgeführt. Dabei dienten die Daten von Montag und Dienstag zur Berechnung der aktuellen Basislinie in der Alkoholaufnahme. Am Mittwoch fand dann das eigentliche Experiment statt. Hierzu wurden die unterschiedlichen Dosen von Bup. den Versuchstieren i.p. verabreicht. Auf Grund der langen Wirkungsstrecke von Bup. mussten die Injektionen 90 Minuten vor Beginn der Experimente erfolgen. Mit den Daten vom Donnerstag und Freitag konnten wir die Länge der Wirkungsdauer der jeweiligen Medikation kontrollieren. Innerhalb dieser Versuchswoche testeten wir unterschiedliche Dosierungen von Bup. (0.1, 0.3 und 1.5mg/kgKG i.p. 90 Minuten vor Experimentbeginn) für eine Dosis-Wirkungs-Kurve.

#### *4.4.2. Experiment 2 – Alkohol-Selbstaufnahme in Abwesenheit von Saccharin*

Mit dem zweiten Experiment sollte ein eventueller Einfluss oder auch eine Verfälschung der Ergebnisse durch die gesüßte Beilösung ausgeschlossen werden. Dafür wurde den Versuchstieren in der Trainingsphase zunächst wieder gesüßte Lösungen angeboten, um den Lerneffekt zu unterstützen. Ab dem 11. Tag haben wir dann begonnen, den Süßstoff schrittweise wieder herauszunehmen, so dass den Versuchstieren ab dem 18. Trainingstag nur noch reines Wasser und eine reine 10%ige Alkohollösung als Trinklösungen zur Verfügung standen (Weiss et al. 1990). Insgesamt benötigte diese zweite Trainingsphase größeren zeitlichen Aufwand, weshalb erst in der dritten Woche mit dem Experiment begonnen werden konnte. Die Abwesenheit von Sac. am Ende des Trainings hat vermutlich das leicht geminderte Basistrinkverhalten zur Folge, von dem aus das Experiment dann

startete. Allerdings lagen die Trinkmengen noch immer oberhalb der festgelegten Grenzwerte von mehr als 30 Tasterbetätigungen innerhalb einer halben Stunde.

Der Tag-Nachtzyklus für die Versuchstiere wurde wieder entgegengesetzt dem natürlichen Rhythmus gewählt. Die „Tagphase“ wurde diesmal von 22 Uhr bis 10 Uhr angesetzt. Sowohl das Training als auch die Experimente (10 Uhr bis ~14 Uhr) der Versuchstiere wurden wieder während der „Nachtphase“ durchgeführt. Hierzu wurden die Käfige, in denen jeweils vier Versuchstiere untergebracht waren, in den Versuchsraum gebracht. Hier wurden die Ratten dann einzeln für je 30 Minuten in eine Versuchsbox gegeben. In dieser Zeit war die Box aktiviert, wodurch die Tasterbetätigungen registriert und die entsprechenden Flüssigkeiten in die Trinkschalen gepumpt wurden.

#### *Trainingsprotokoll*

- d 1-3;            0.2%ige Saccharinlösung für beide Seiten
- d 4-8;            Taster 1: 0.2% Sac-Lsg., Taster 2: 5% EtOH in 0.2%iger Sac-Lsg.
- d 9-10;           Taster 1: 0.2% Sac-Lsg., Taster 2: 8% EtOH in 0.2%iger Sac-Lsg.
- d 11;            Taster 1: 0.1% Sac-Lsg., Taster 2: 8% EtOH in 0.2%iger Sac-Lsg.
- d 12-13;          Taster 1: 0.1% Sac-Lsg., Taster 2: 10% EtOH in 0.2%iger Sac-Lsg.
- d 14-15;          Taster 1: 0.05% Sac-Lsg., Taster 2: 10% EtOH in 0.1%iger Sac-Lsg.
- d 16-17;          Taster 1: reines Wasser, Taster 2: 10% EtOH in 0.05%iger Sac-Lsg.
- d 18-;            Taster 1: reines Wasser, Taster 2: 10% EtOH.

Den Versuchstieren wurde im Rahmen des Trainings diesmal ein Zeitraum von fast drei Wochen gegeben, um eine stabiles Basisniveau im Trinkverhalten zu erreichen, bevor mit den Experimenten begonnen wurde.

Bei diesem Durchgang war von besonderer Bedeutung, dass ab dem 11. Tag begonnen wurde die Sac-Lsg. auszuschleichen. Somit waren beide Trinklösungen vor Beginn des Experimentes frei von gesüßten Lösungen (Samson 1986; Samson et al. 1988).

#### *Experimentenprotokoll*

Erneut wurden alle Tiere mit einer ausreichenden hohen Anzahl an Tasterbetätigungen ( $\geq 30$  Tasterbetätigungen in 30 Minuten) für die Alkoholseite ausgewählt und auf vier Experimentiergruppen verteilt ( $n \geq 8$ ).

Das Experiment wurde ebenso in einem wöchentlichen Rhythmus durchgeführt. Dabei dienten die Daten von Montag und Dienstag wieder zur Berechnung der aktuellen Basislinie in der Alkoholaufnahme. Am Mittwoch fand dann das eigentliche Experiment statt. Hierzu wurden die unterschiedlichen Dosen von Bup. den Versuchstieren wieder i.p. verabreicht. Auf Grund der langen Wirkungsstrecke von Bup. mussten die Injektionen 90 Minuten vor Beginn der Versuche erfolgen. Mit den Daten vom Donnerstag und Freitag konnten wir die Länge der Wirkungsdauer der jeweiligen Medikamentation verfolgen. Diese Versuchswoche mit verfeinerten Dosierungsschritten diente ebenfalls zur genaueren Beschreibung der Dosis-Wirkungs-Kurve von Bup. (0.3, 0.1, 0.03mg/kgKG i.p. 90 Minuten vor Experimentbeginn).

### **4.5. statistische Auswertung der Daten**

Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen wurden mittels one-way ANOVA und dem Tukey post-hoc Test analysiert. Diese Analyse fand mit dem Softwareprogramm Statistica statt. Als Kontrollgruppe wurde jeweils die Versuchsgruppe genommen, die eine NaCl-Injektion erhalten hatte. Der Wert der NaCl-Gruppe wurde dann den Werten der einzelnen Gruppen gegenübergestellt, die nach der Applikation mit Bup. gemessen wurden. Eine statistische Signifikanz wurde ab einem p-Wert von kleiner als 0,005 angenommen.

## 5. Ergebnisse

Die folgenden Graphiken zeigen jeweils für jeden Teilbereich des Trinkverhaltens die Mittelwerte mit dem Standardfehler (SEM-Standard Error of the Mean) der einzelnen vier Versuchsgruppen vor der Behandlung mit Bup. und die direkten Auswirkungen nach Bup.-Gabe. Dabei entsprechen die Tasterbetätigungen vor Bup.-Gabe dem Basistrinkwert der Versuchstiere.

Somit lässt sich das Trinkverhalten unter Bup.-Einfluss einerseits mit dem der Vortage vergleichen und andererseits direkt mit der NaCl-Kontrollgruppe in Beziehung setzen. Allerdings wurden für die statistische Auswertung die Werte der einzelnen Behandlungsgruppen nur dem Wert der Kontrollgruppe gegenübergestellt.

### 5.1. Experiment 1 – Das Trinkverhalten in Anwesenheit von Saccharin

#### 5.1.1. Das Alkoholtrinkverhalten bei gesüßter Lösung

Nach der Trainingsphase lagen die Werte für den Alkoholkonsum im Durchschnitt stabil zwischen 37.6 und 34.9 (SEM 3) Tasterbetätigungen innerhalb von 30 Minuten.

Bei dem folgenden Experiment wurde Bup. in steigender Dosierung den drei Versuchsgruppen Bup. (0.03; 0.3; 1.5mg/kgKG) und einer Kontrollgruppe NaCl appliziert.

Die Kontrollgruppe zeigte mit durchschnittlich  $39,28 \pm 4$  Tasterbetätigungen keine Veränderung im Trinkverhalten.

Als erstes Ergebniss nach den Bup.-Injektionen zeigte sich für alle Versuchsgruppen eine Reduzierung der Tasterbetätigungen für die Alkoholseite.

Eine Dosis von 0.03mg/kgKG senkte den Tasterwert dabei auf einen Mittelwert von  $26.71 \pm 3$ , allerdings ohne eine statistische Signifikanz zu erreichen.

Die Tukey HSD-Analyse zeigte, dass die zweithöchste Dosis (Bup. 0.3 mg/kgKG;  $F_{3,36}=10.06$ ;  $p<0.001$ ; \*\*\*) einen deutlich stärkeren Effekt erzielte. Bei dieser Dosis fiel der durchschnittliche Wert der Tasterbetätigungen auf  $5.866 \pm 2$ . Im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigte sich hier eine deutliche statistische Signifikanz.

Die höchste Dosis (Bup. 1.5 mg/kgKG i.p.;  $F_{3,36}=10.06$ ,  $p<0.001$ ; \*\*\*) führte zu einem nur leicht stärker reduzierten Wert im Alkoholtrinkverhalten gegenüber der mittleren



Dosis, wobei die Tasterbetätigungen hier im Mittel auf  $4,15 \pm 2$  abfielen. Auch hier wurde eine hohe statistische Signifikanz gegenüber der Kontrollgruppe errechnet. Insgesamt konnte hierbei ein dosisabhängiger Effekt beobachtet werden.

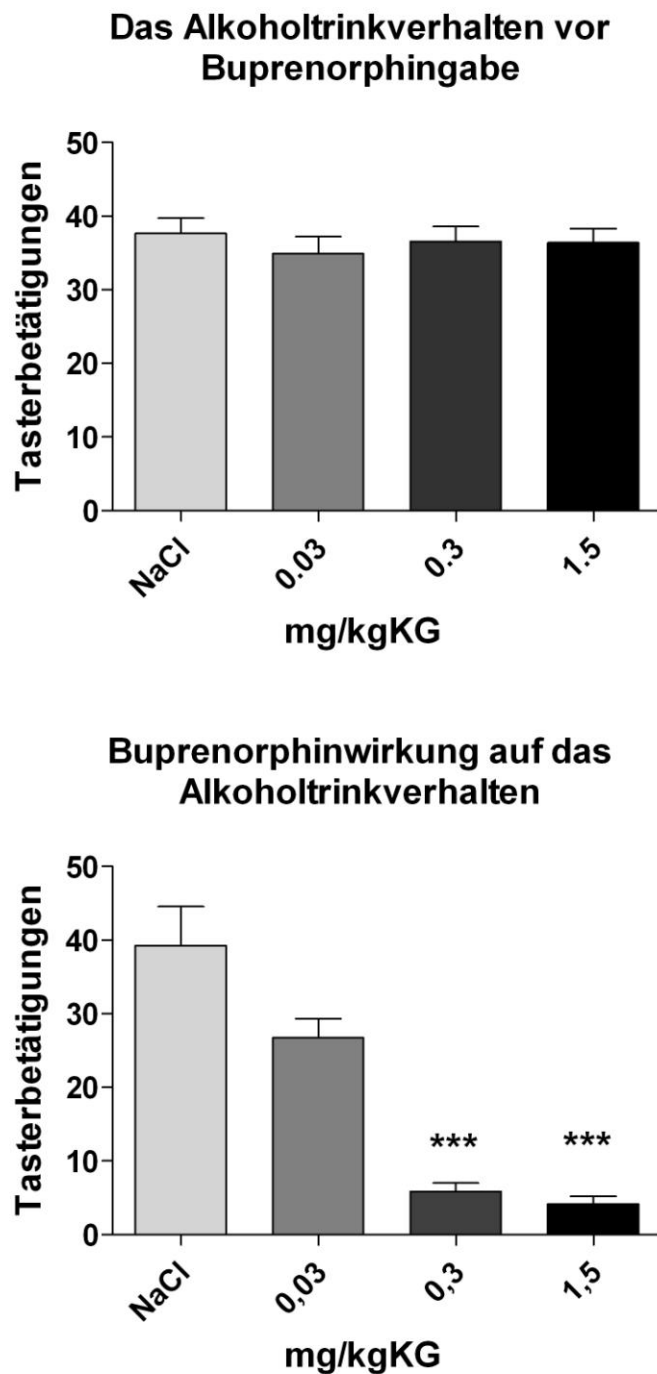


Fig. 3: Der Effekt von Bup. auf das Alkoholtrinkverhalten bei gesüßter Lösung

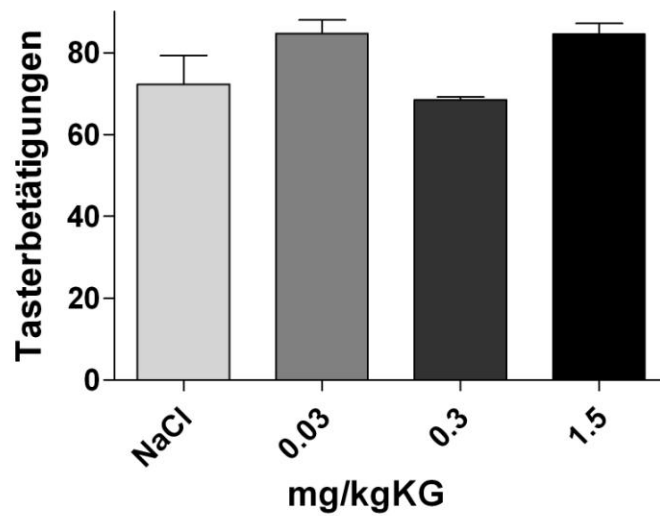
### 5.1.2. Das Wassertrinkverhalten bei gesüßter Lösung

Nach der Trainingsphase lagen die Werte für den gesüßten Wasserkonsum im Durchschnitt stabil zwischen 68.5 und 84.7 (SEM bis 8) Tasterbetätigungen innerhalb einer halben Stunde.

Bei dem folgenden Experiment wurde den drei Versuchsgruppen Bup. in steigender Dosierung Bup. (0.03; 0.3; 1.5mg/kgKG) und einer Kontrollgruppe NaCl appliziert. Der durchschnittliche Wasserkonsumwert für die Kontrollgruppe lag bei  $33.866 \pm 4$  Tasterbetätigungen.

Signifikante Veränderungen auf Seiten der gesüßten Wasseraufnahme wurden für keine der Dosisgruppen in Bezug zur Kontrollgruppe beobachtet. Es kam allerdings insgesamt zu einem geringeren Trinkverhalten bei allen Versuchsgruppen im Vergleich zu den Vortagen. Dabei fiel besonders bei der höchsten Bup.-Dosis (1.5mg/kgKG) die stärkste Reduktion bei der Anzahl der Tasterbetätigungen auf, die hier im Mittel bei  $16.066 \pm 3$  lag. Dabei wurde aber nur ein p-Wert von 0.603 erreicht. Bei einer Bup.-Dosis von 0.03mg/kgKG wurde ein durchschnittlicher Tasterbetätigungswert von  $51.73 \pm 7$  gemessen und bei 0.3mg/kgKG sank der Konsum auf einen Mittelwert von  $33.233 \pm 7$ .

### Die Wasseraufnahme bei gesüßter Lösung vor Buprenorphingabe



### Buprenorphinwirkung auf die Wasseraufnahme bei gesüßter Lösung

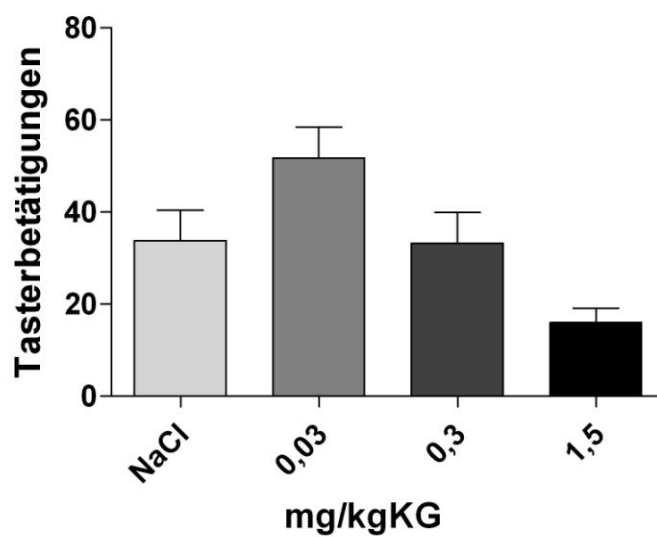


Fig. 4: Der Effekt von Bup. auf das allgemeine Trinkverhalten bei gesüßter Lösung

## 5.2. Experiment 2 – Das Trinkverhalten in Abwesenheit von Saccharin

Im Allgemeinen fällt die Trinkreaktion bei den Versuchen mit ungesüßten Trinklösungen geringer aus, wodurch die zweite Versuchsreihe von einem etwas niedrigeren Basistrinkwert aus beginnen musste.

### 5.2.1. Das Alkoholtrinkverhalten

Nach der Trainingsphase lagen die Werte für den Alkoholkonsum im Durchschnitt stabil um die 33.8 (SEM bis 7) Tasterbetätigungen innerhalb von 30 Minuten.

Drei Versuchsgruppen wurde bei dem folgenden Experiment Bup. in steigender Dosierung (0.03; 0.1; 0.3mg/kgKG) und einer Kontrollgruppe NaCl appliziert.

Für die Kontrollgruppe konnte ein Alkoholkonsumwert von durchschnittlich  $25.6 \pm 3$  Tasterbetätigungen ermittelt werden.

Bei einer Bup.-Dosis von 0.03mg/kgKG zeigte sich mit durchschnittlich  $37.5 \pm 5$  Tasterbetätigungen zwar ein leichter Anstieg des Alkoholkonsums, doch bewegt sich dieser Wert noch innerhalb des SEM.

Im Vergleich zu den Vortagen wurden die Tasterbetätigungen für die Alkoholseite durch die Bup.-Injektionen und die NaCl-Injektion beeinflusst. Die Beeinflussung der Kontrollgruppe kann auch mit Stress bei der i.p.-Medikation zusammenhängen. Verglichen mit der Kontrollgruppe fand eine Reduzierung des Alkoholkonsums nur bei den zwei höchsten Dosen (Bup. 0.1 und 0.3mg/kgKG) statt. Bei 0.1mg/kgKG Bup. zeigte sich ein Mittelwert von  $19.9 \pm 6$  Tasterbetätigungen.

Auch wenn hier durch die biologische Streuung und das von Beginn an geringere Grundlevel keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden konnte, so ist jedoch eine eindeutige Tendenz zu erkennen. Hierbei zeigt sich wieder bei der höchsten Dosis (Bup. 0.3mg/kgKG) der stärkste Effekt auf die Verminderung der Anzahl an Tasterbetätigungen, die dann im Durchschnitt bei  $6.88 \pm 4$  lag ( $F_{3,32}=4.10$  ;p-Wert von 0.0226; \*?).

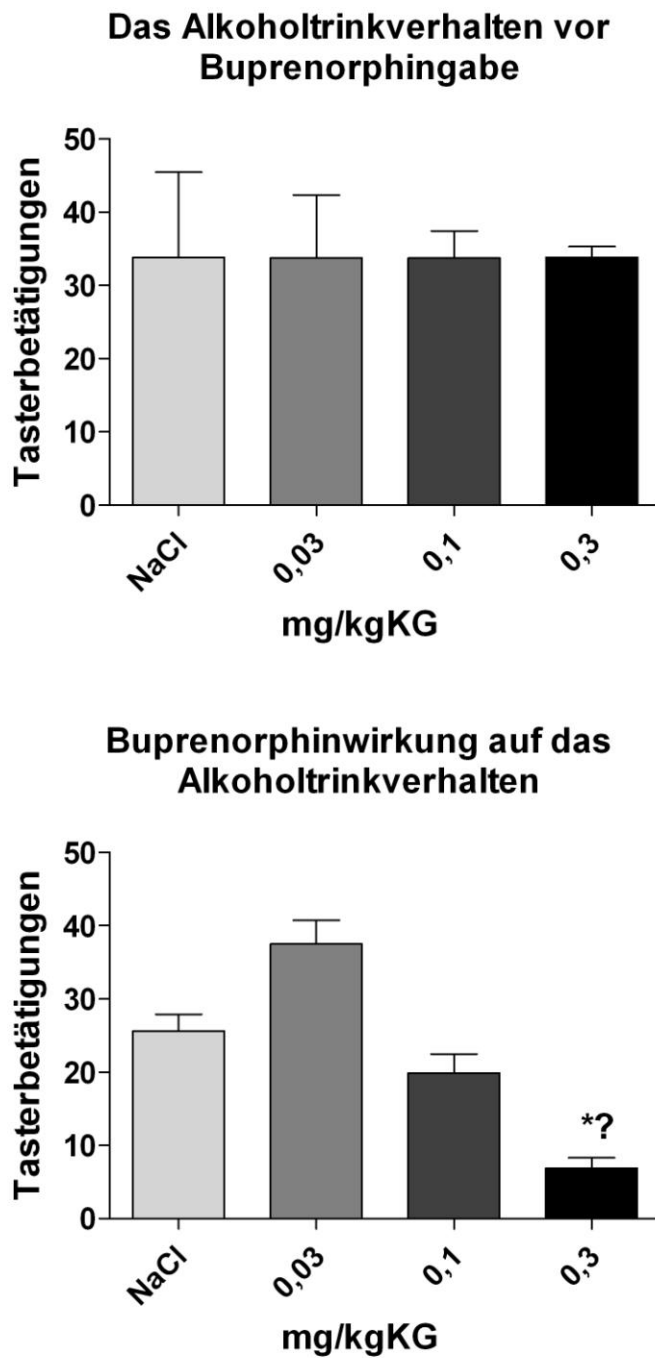


Fig. 5: Der Effekt von Bup. auf das Alkoholtrinkverhalten

### 5.2.2. Das Wassertrinkverhalten

Nach der Trainingsphase lagen die Werte für den Wasserkonsum im Durchschnitt zwischen 12.44 und 29.16 (SEM bis 3) Tasterbetätigungen innerhalb von 30 Minuten.

Innerhalb des Experiment wurde Bup. den drei Versuchsgruppen in steigender Dosierung (0.03; 0.1; 0.3mg/kgKG) appliziert und einer Kontrollgruppe NaCl verabreicht.

Für die Kontrollgruppe lag der durchschnittliche Wasserkonsum bei  $18.611 \pm 2$  Tasterbetätigungen.

Signifikante Veränderungen für die Seite der Wasseraufnahme wurden für keine der Gruppen in Bezug zur Kontrollgruppe beobachtet. Bei den Bup.-Dosen von 0.03 und 0.1mg/kgKG zeigten sich jeweils durchschnittliche Konsumwerte von  $10.8 \pm 2$  bzw.  $10.3 \pm 2$  Tasterbetätigungen.

Insgesamt konnte erneut ein geringeres Trinkverhalten im Vergleich gegenüber den Vortagen beobachtet werden. Hierbei zeigte sich mit der höchsten Dosis (Bup. 0.3mg/kgKG) auch wieder die stärkste Reduktion für den Wasserkonsum auf nur noch durchschnittliche  $3,22 \pm 1$  Tasterbetätigungen.

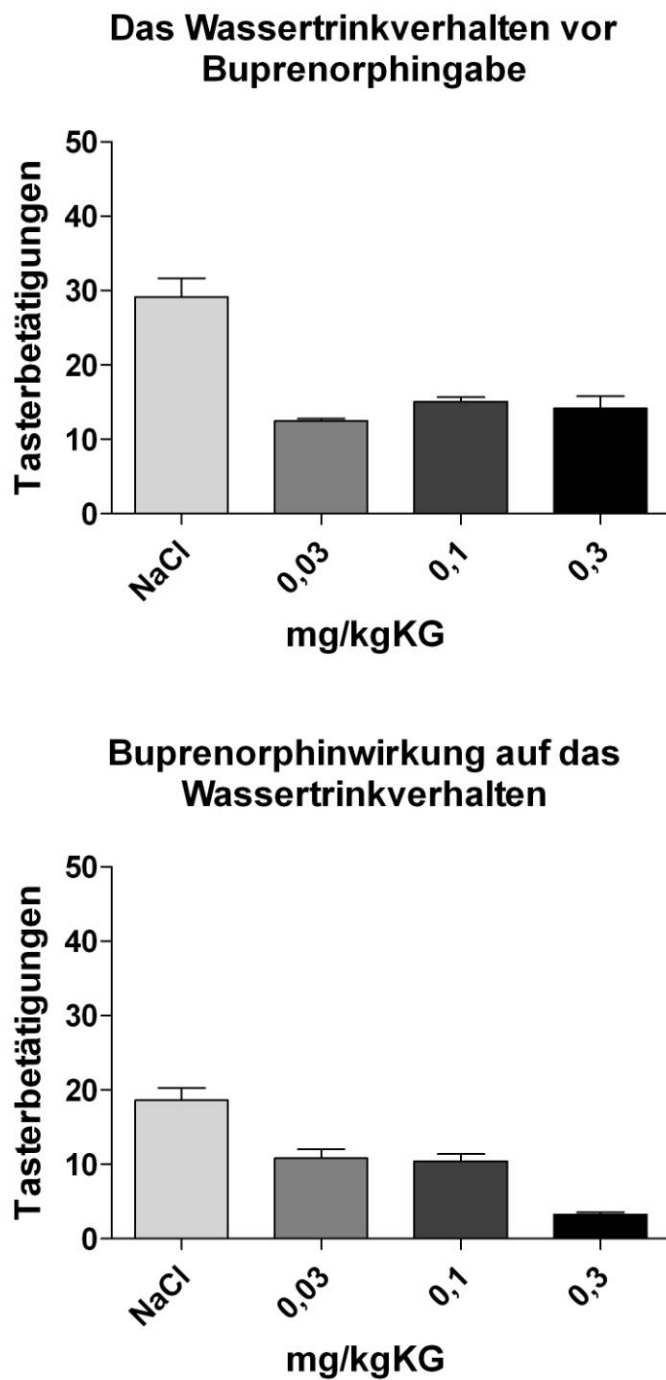


Fig. 6: Der Effekt von Bup. auf das allgemeine Trinkverhalten

### 5.3. Verhaltensbeobachtungen

Auf Grund des Wechsels zwischen Werktagen und Wochenende konnte den Versuchstieren Alkohol an fünf Tagen angeboten werden, gefolgt von zwei Tagen ohne Alkoholzugang. In den Wochen der Trainingsphase fielen nun besonders stärkere Mengen des Alkoholkonsums immer wiederkehrend montags nach der Wochenendepause auf. Dieses Verhaltensmuster kann als verstärktes Verlangen gedeutet werden, das nach einer kurzen Phase des Entzugs auftritt und als Craving beschrieben werden kann. Hier wird somit ein Kriterium der Suchtentwicklung dargestellt.

Eine weitere Auffälligkeit während der Trainingsphase war, dass die Versuchstiere recht schnell ein zutrauliches Verhalten entwickelten. Besonders deutlich wurde dies bei Betreten des Experimentierraumes und kurz vor der gewohnten Zeit, in der die Tiere in die Versuchsboxen gelangten. Einige der Tiere zeigten hier keinerlei Angst vor der Hand des Versuchsleiters und begaben sich teilweise sogar fast von selbst in die Boxen, als diese in Sprungreichweite kam. All das zusammen deutete stark darauf hin, dass die Ratten mit dem Ort der Experimente besonders positive Erinnerungen verbanden.

Während der anschließenden Experimente mit Bup. wurde bei den Tieren mit der höchsten Bup.-Dosis (Bup. 1.5mg/kgKg) insgesamt ein ruhigeres Verhalten direkt nach Ende des Versuches beobachtet. Dies zeigte sich vor allem darin, dass die Tiere sehr ruhig in der Versuchsbox saßen ohne Angst zu zeigen und sich auch beim Herausnehmen aus den Boxen, durch die Hand des Versuchsleiters, nicht stören ließen. Einer Sedierung selbst widersprach allerdings, dass die Versuchstiere nach der sofortigen Rückkehr in ihre Käfige wieder ein normales Verhalten an den Tag legten.

Ebenso zeigte sich bei der höchsten Dosis von Bup. bei einigen Tieren eine Versteifung im Bereich der Schwanzwurzel, die auf eine generelle Beeinflussung der autochthonen Rückenmuskulatur schließen lässt. Diese verschwand jedoch nach einigen Minuten wieder.



## 6. Diskussion

Als gemischter Opioid Antagonist/Agonist weist Bup. bereits eine erfolgreiche Geschichte in der Herointherapie auf und wird momentan auch als mögliches Medikament zur Behandlung der Alkoholabhängigkeit diskutiert (Mello et al. 1993; Kakko et al. 2003).

Anhand der vorliegenden Studie lässt sich erstmalig ein umfangreicher und eindeutiger Effekt von Bup. nachweisen, der vor allem das Alkoholtrinkverhalten signifikant reduziert und ebenso das allgemeine Trinkverhalten beeinflusst. Bei einem Blick auf die dosisabhängige Wirkung von Bup. zeigten sich die hochinteressanten Unterschiede schon im ersten Versuch.

Bei der höchsten Dosis (Bup. 1.5mg/kgKG) lassen sich sowohl verminderte Trinkwerte für die Alkoholsekseite als auch für die gesüßte Wasserseite messen, was eine generelle Verminderung des Trinkverhaltens darstellt. Das allgemein beobachtete Verhalten dieser Versuchsgruppe, welches als Desinteresse an jeglicher Trinkhaltung verstanden werden könnte und durch ein sehr ruhiges fast sediertes Verhalten zu Tage trat, scheint dies zu unterstützen. Einer Sedierung selbst widersprach jedoch die schnelle Normalisierung des Verhalten nach der anschließenden Rückkehr in die gewohnten Käfige.

Schaut man nun auf die nächst kleinere Dosis (Bup. 0.3mg/kgKG) so erkennt man für die Seite des gesüßten Wassers keinen nennenswerten Effekt mehr. Jedoch lässt sich für die Alkoholsekseite eine fast identische, signifikant senkende Wirkung allein auf den Alkoholkonsum verzeichnen, die ähnlich der Wirkung der höchsten Dosis von Bup. (1.5mg/kgKG) ist.

Dies zeigt eindeutig eine rein selektive Wirkung von Bup. auf den Mechanismus der Alkoholsucht bereits ab einer deutlich geringeren Dosis als der von 1.5mg/kgKG, die das Trinkverhalten im Allgemeinen reduziert.

Bei der zweiten Versuchsreihe mit ungesüßten Lösungen galt es herauszufinden, ob die Messungen durch den Süßstoff selbst verfälscht worden sein könnten.

Da im ersten Experiment die zwei höchsten Dosen von Bup. fast identische Effekte auslösten, lag es nahe, die Dosen im Bereich von 0.03 und 0.3mg/kgKG weiter zu

differenzieren, um die Dosis-Wirkungs-Beziehung genauer untersuchen zu können. Zu diesem Zweck führten wir eine Bup.-Dosis von 0.1mg/kgKG ein.

Als erste Beobachtung für den ungesüßten Versuch fiel auf, dass das Basis-trinkniveau bereits in der Trainingsphase geringfügig unter dem der ersten Versuchsreihe lag. Dies kann durchaus an der fehlenden Süße der Trinklösungen gelegen haben. Allerdings wurde der von uns zuvor festgelegte Grenzwert, mit einer durchschnittlichen Trinkmenge von mehr als 30 Tasterbetätigungen je Versuchsdurchlauf, erreicht.

Dieser geringere Grundpegel könnte der Grund dafür sein, dass bei den anschließenden Experimenten mit den unterschiedlichen Bup.-Dosen keine eindeutige statistische Signifikanz erreicht wurde, da die biologische Streuung hierbei zu stark ins Gewicht fiel.

Jedoch zeigte sich, wie bereits in der ersten Versuchsreihe beschrieben, eine deutliche Minderung der Alkoholaufnahme mit steigender Dosis von Bup..

Die Daten zeigen ebenfalls, dass sich die Wirkung von Bup. nicht in einer linearen Beziehung zur Dosis ergibt, sondern eher eine exponentielle Dosis-Wirkungs-Beziehung zu vermuten ist. Dies wird zum Einen deutlich an der rasanten Wirkungsverstärkung beim Übergang von der Dosis 0.03 auf 0.3mg/kgKG. Zum Anderen spricht die Tatsache, dass beim folgenden Dosisübergang von 0.3 auf 1.5mg/kgKG keine weiteren entscheidenden Wirkungszuwächse zu verzeichnen sind, für einen exponentiellen dosisabhängigen Wirkzusammenhang.

Allerdings erschwert diese Art der Dosis-Wirkungs-Beziehung, die Ermittlung einer optimalen Dosis für eine eventuelle spätere klinische Anwendung.

Eine bereits 1998 durchgeführte Studie fand einen ähnlich starken Effekt von Bup. auf den Alkoholkonsum, was durch unsere Daten bestätigt wird. Allerdings lag der Schwerpunkt jener Studie auf der Untersuchung eines zeitabhängigen Effektes (June et al. 1998).

Bei unseren Untersuchungen war vor allem die absolute Menge an konsumierter Flüssigkeit von Interesse. Durch diese Herangehensweise fiel erstmals der besondere Unterschied zwischen der Beeinflussung von speziellem und allgemeinem Trinkverhalten in Bezug zur Bup.-Dosis auf.

Bei der Durchführung aller Experimente mit gesüßten Lösungen wurde ausschließlich Saccharin verwendet (Samson 1986). Damit sollte der kalorische Effekt von Glucose und ein durch Glucose ausgelöstes Craving vermieden werden. Dies hätte sonst womöglich die Beobachtungen über das Verhalten zur Alkoholaufnahme und das hiermit verbundene Craving erheblich beeinträchtigt (Vartiainen 1967).

### **6.1. Allgemeines Trinkverhalten vs. Alkoholtrinkverhalten**

Die Mechanismen für das Alkoholsuchtverhalten und des Durstgefühles verknüpft mit dem allgemeinen Trinkverhalten werden jeweils unterschiedlichen Gehirnregionen, wie dem mesolimbischen System bzw. der präoptischen Region, zugeordnet (Johnson und Buggy 1978; Koob et al. 1994). Somit sind hier einerseits zwar zwei eigenständige Funktionszentren vorhanden, jedoch liegen diese topographisch auch eng beieinander, so dass eine gegenseitige Beeinflussung durchaus möglich ist. Des Weiteren ist das körpereigene natürliche Belohnungssystem ebenfalls mit beiden Verhaltensweisen eng verknüpft. So befinden sich z.B.  $\mu$  und  $\kappa$ -Rezeptoren in beiden Hirnbereichen an denen Bup. wiederum ansetzen kann (George et al. 1994).

Der NAcc und besonders Faserverbindungen aus dem Bereich seiner Schale werden dabei als ein bedeutender Knotenpunkt diskutiert, von dem aus bereits verschiedene Projektionen beschrieben worden sind (Nieuwenhuys 1996). Einerseits konnten efferente Nervenfasern dargestellt werden, die unter anderem in die präoptische Region hineinführen (Zahm und Heimer 1993) und andererseits sind auch Verbindungen zwischen hypothalamischen Kernen und dem präoptischen Gebiet mittels vasopressinergischer Neurone bekannt (Sofroniew 1980; Sofroniew und Schrell 1980).

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen eine funktionelle Verbindung zwischen beiden Zentren von NAcc und der präoptischen Region. Diese wurde bereits durch vorhandene morphologische Studien über die efferenten und afferenten Projektionen dieser Kerngebiete vermutet (Zigmond et al. 1999).

Bup. als gemischter Opioid-Agonist-Antagonist wirkt als partieller Agonist an  $\mu$ -Rezeptoren und als Antagonist an  $\kappa$ -Rezeptoren und nimmt somit direkten Einfluß auf Gebiete wie NAcc, Hippocampus, Thalamus und Hypothalamus, die zum Belohnungs- und Motivationszentrum des limbischen Systems gehören (Carlson 2001). Die mediale präoptische Region sowie der Ncl. tractus solitarius besitzen ebenfalls  $\mu$ - und  $\kappa$ -Rezeptoren, die hier den Trinkmechanismus beeinflussen können (George et al. 1994).

Der antagonistische Effekt von Bup. über  $\kappa$ -Rezeptoren wirkt somit hemmend auf die entsprechenden Gehirngebiete, und auch wenn der partiell agonistische Effekt an  $\mu$ -Rezeptoren leicht stimulierende Eigenschaften besitzt, so sind diese jedoch im Vergleich zu reinen Agonisten eher gering (Estler 2000). Somit können durch Bup. auch über  $\mu$ -Rezeptoren Wirkungen erzielt werden, die im Vergleich zu reinen Agonisten leicht hemmenden Charakter besitzen.

Der mediale präoptische Kern stellt einen wichtigen Knotenpunkt im neuronalen Durstmechanismus dar (Huang und Mogenson 1972). In zurückliegenden Studien wurde bereits die Anwesenheit von Opioidrezeptoren in diesem Bereich nachgewiesen, ebenso wie im vorgeschalteten Tractus solitarius (Czech et al. 1983; Sumner et al. 1990).

Durch diesen Zusammenhang liegt die Vermutung nahe, dass das Trinkverhalten hier durch einen entsprechenden Opioidantagonisten oder auch einen partiellen Agonisten direkt gehemmt werden kann.

Eine deutliche allgemein trinkhemmende Wirkung, sowohl für die gesüßte Wasseraufnahme als auch für die Alkoholaufnahme, konnte in unseren Versuchen erst ab der höchsten Bup.-Dosis von 1,5mg/kgKG nachgewiesen werden. Einerseits könnte dies bedeuten, dass eine ausreichend große Menge an Bup. nötig ist, um mittels vorhandener Opioidrezeptoren eine Herunterregulation des gesamten medialen präoptischen Kerns zu bewirken (Briski und Teodecki 1999). Andererseits aber könnte auch die Möglichkeit bestehen, dass Bup. seine Wirkung auch noch über ein anderes Rezeptorensystem vermittelt (Sadee et al. 1982), das aber erst ab einer höheren Schwellendosis in Erscheinung tritt.

Eine selektiv verminderte Alkoholaufnahme wird bereits durch geringe Dosen Bup. von 0,3mg/kgKG sichtbar, bei der das allgemeine Trinkverhalten an sich noch nicht so stark beeinflusst wird.

Dies zeigt, dass Bup. hier gezielt in den Belohnungsmechanismus von Alkohol eingreifen kann. Es wurde bereits aufgezeigt, dass ein Teil der Wirkung von Alkohol über das endogene Opioidsystem vermittelt wird (Gianoulakis 2004), wobei der NAcc hier eine zentrale Rolle spielt. Ausgehend vom  $\mu$ -Rezeptor vermitteln endogene Opioide das Gefühlserleben von Euphorie und positiver Verstärkung (Forth et al. 1996). Wird dieses System nun durch einen partiellen Agonisten und Antagonisten herunterreguliert bzw. blockiert, so bleibt demzufolge nach erfolgter Alkoholaufnahme die stimulierende Wirkung des Alkohols aus. Dieses Fehlen einer positiven Verstärkung wäre eine Möglichkeit, die reduzierte Aufnahme an Alkohol zu erklären. Bup. mit seiner recht starken Rezeptoraffinität und seiner langen Rezeptorbindungshalbwertszeit besetzt nun diese Rezeptoren als partieller Agonist. Dadurch wird das dahinterliegende Belohnungssystem nur geringfügig aktiviert, wodurch etwaige Entzugssymptome abgeschwächt werden könnten. Gleichzeitig finden endogene Opioide, welche durch die Alkoholaufnahme ausgeschüttet werden, keine Bindungsplätze.

Besonders interessant erscheint der Sprung von der Veränderung des reinen Alkoholtrinkverhalten zur Beeinträchtigung des allgemeinen Trinkverhaltens.

Da mit einer Bup.-Dosis von 0,3mg/kgKG Bup. auf Seiten des Alkoholkonsums schon eine maximale Wirkung erzielt werden kann, ist die Wahrscheinlichkeit groß, dass hier die Opioidrezeptoren bereits alle besetzt sind. Weitere Effekte, die auf einer höheren Dosis von Bup. basieren, stehen somit wahrscheinlich nicht direkt mit den klassischen Opioidrezeptoren in Verbindung.

Durch Studien der letzten Jahre zeigte sich, dass Bup. auch an anderen Rezeptoren binden kann (Sadée et al. 1982). Zu diesen Gruppen gehören das Nociceptin/Orphanin (FQ-NOP) Rezeptorsystem und Opioid-Rezeptor-Like-1 (ORL-1) Rezeptoren (Bloms-Funke et al. 2000; Yamamoto et al. 2006). Weiterhin ist es auch denkbar, dass es bisher unbekannte Rezeptorengruppen gibt, mit denen Bup. ebenso in Interaktion treten kann.

In Bezug auf das allgemeine Trinkverhalten und den wichtigen medialen prä-optischen Kern kann dies folgendes bedeuten:

Die bereits bekannten Opioidrezeptoren im Bereich dieses Kernes und auch weiterer Zentren, die für die Trinkkontrolle wichtig sind, reichen nicht aus, um die Effekte von Bup. über einer Dosis von 0.3mg/kgKG zu erklären.

Da Bup. auch an anderen Rezeptoren binden kann, ergeben sich zwei weitere wichtige Erkenntnisse. Zum Einen muss durch Bup. ein hemmender Effekt auf zentrale Bereiche im Trinkmechanismus ausgelöst werden. Zum Anderen müssen in diesen Bereichen Rezeptoren vorhanden sein, die entweder zum FQ-NOP und/oder ORL-1-Rezeptorensystem gehören. Somit lässt sich die Aussage treffen, dass diese zuletzt genannten Rezeptoren einen hemmenden Einfluss auf das Trinkverhalten ausüben würden.

Hier anknüpfend wären weiterführende Studien von großem Interesse, um genauere Lokalisationen von FQ-NOP Rezeptoren und ORL-1 Rezeptoren im medialen präoptischen Kern, dem Ncl. tractus solitarius oder auch anderer Kernengebiete, die mit dem Trinkmechanismus verknüpft sind, herauszufinden.

Im Umkehrschluss ist aber auch der Gedanke interessant, dass es gar kein Opioidrezeptor sein muss, der wiederum die Effekte auf das Alkoholtrinkverhalten bedingt. Somit können Nociceptin/Orphanin FQ-NOP Rezeptoren oder OLR-1 Rezeptoren im Bereich des NAcc vorhanden sein, die in Verbindung mit Bup. den eigentlichen hemmenden Effekt auf das Belohnungssystem auslösen.

Weiterführende Studien der Forschungsgruppe um R. Ciccocioppo und M. Heilig, aus dem Jahr 2007, haben mittlerweile die Bedeutung von Nociceptin-Rezeptoren in Bezug zum Alkoholtrinkverhalten aufzeigen können (Ciccocioppo et al. 2007).

Als dritte Möglichkeit wäre es auch denkbar, dass es eine noch unbekannte Rezeptorengruppe gibt, die von Bup. beeinflusst werden kann und im oben beschriebenen Kontext mit involviert ist.

Die genaue Verteilung von Opioidrezeptoren und auch Rezeptoren aus deren Untergruppen ist noch immer nicht restlos geklärt und Gegenstand vielfältiger Diskussionen (Bodnar und Hadjimarkou 2002; Bodnar 2007). Mit der hier vor-

liegenden Studie könnte ein wichtiger Baustein zu Aufklärung dieser Verteilungsstrukturen geliefert werden.

Des Weiteren könnte eine weiterführende elektrophysiologische Studie ein wichtiger Ansatzpunkt sein, um die verhaltensphysiologischen Ergebnisse genauer aufzuklären, und damit die genauen Wechselwirkungen zwischen Bup. und den einzelnen Rezeptorsystemen zu verstehen.

All dies macht deutlich, dass Bup. als ein neues Medikament zur Behandlung und Unterstützung der Alkoholsuchttherapie besondere klinische Bedeutung erlangen könnte.

## **6.2. Möglichkeiten und Probleme der klinischen Anwendung**

Es besteht die Möglichkeit, dass durch die unterschwellige Aktivierung des  $\mu$ -Rezeptors durch Bup., der unter anderem eine positive Verstärkung bzw. Euphorie vermittelt, ein leichter positiver Effekt auf die allgemeine Gemütslage erreicht wird. Etwaige Entzugssymptome könnten über diesen Weg bei der Entzugstherapie von Alkohol abgeschwächt oder verhindert werden. Ebenso hilfreich könnte dieser Mechanismus bei der Rückfallprophylaxe sein. Dies müsste jedoch in weiteren, vor allem klinischen, Studien untersucht werden.

Am Ncl. supraopticus und Ncl. paraventricularis im Hypothalamus bewirkt der antagonistische Effekt von Bup. mittels  $\kappa$ -Rezeptoren womöglich eine allgemeine Hemmung und damit auch eine geminderte Vasopressinsynthese. Durch die mangelnde Wasserrückresorption in den Nierentubuli wäre dann mit recht hohen Flüssigkeitsverlusten zu rechnen. Dies wiederum könnte unter Umständen zu dem problematischen Zustand eines osmotischen Schockes führen.

Darüber hinaus erscheint es interessant, ob man diesen Mechanismus auch nutzen könnte, um den Blutdruck im Gefäßsystem zu kontrollieren. Hierbei wäre natürlich eine exakte Dosierung notwendig, allerdings bietet sich hier eventuell eine neue Ansatzmöglichkeit, die weiterführende Untersuchungen verdient.

Für den Bereich der klinischen Anwendung am Patienten bleiben noch einige Fakten zu bedenken: Bup. kann zwar in hinreichender Menge die Blut-Hirn-Schranke überwinden (Jensen et al. 2007), doch wird ein zu großer Anteil bereits durch den First-Pass-Effekt der Leber abgebaut, wodurch eine orale Applikationsform im Rahmen einer längeren Therapiedauer nur schwer möglich ist (Brewster et al. 1981).

Zur Ausschaltung des Leberkreislaufes kann Bup. zwar i.v. appliziert werden, womit eine höhere Bioverfügbarkeit erreicht werden kann, doch sind die dazu notwendigen Voraussetzungen für einen längeren Therapiezeitraum vorwiegend im stationären Bereich gegeben.

Für eine begleitende und unterstützende Therapie im Alltag ist jedoch eine Darreichungsform vonnöten, die es dem Patienten erlaubt, Bup. regelmäßig und ohne große Umstände zu sich zu nehmen. Dabei sollten die Dosierungen genau abzuschätzen sein.

Der Weg über die Nasenschleimhäute wäre hierbei von besonderem Interesse. Durch die hohe Lipophilie von Bup. zeigt sich noch ein weiterer Ansatz. In diesem Zusammenhang bietet vor allem die transdermale Applikationsform große Vorteile. Durch die Anwendung bekannter transdermaler Opioidsysteme, wie in der Schmerztherapie, lässt sich die hier bereits vorhandene Erfahrung nutzen, um eine genaue Dosisabgabe kontrollieren zu können (Sittl 2006). Somit kann ein übermäßiger Gebrauch vermieden und das Missbrauchspotential gesenkt werden.

Dies ist insofern wichtig, da Bup., als Opioidverbindung und als Psychopharmakon, selbst auch ein gewisses Suchtpotential besitzt (Hakansson et al. 2007). Dieses ist im Vergleich zu Morphin zwar um ein vielfaches geringer, doch ist es vorhanden und darf nicht unterschätzt werden. Hierbei stellt sich nun die ethische Frage, inwieweit und ab wann es gerechtfertigt ist, einen Patienten mit einer Suchterkrankung wie der des Alkoholismus mit einem anderen potentiellen Suchtstoff wie dem des Opioids zu behandeln.

In der Praxis wird diese ethische Frage wohl von Fall zu Fall entschieden werden müssen.

Die Nebenwirkungen, wie z.B. eine atemdepressive Wirkung, bei einer klinischen Anwendung werden sich von denen anderer Opiode nur geringfügig unterscheiden. Doch auch hier kommen dem Medikament seine Eigenschaften eines partiellen



Opioid Agonisten/Antagonisten zu Gute. Viele der Nebenwirkungen fallen oft weit geringer aus als bei Anwendung reiner Opiode (Johnson et al. 2003).

Nichtsdestotrotz bietet Bup. mit seinem einzigartigen Wirkungsspektrum einen hoffnungsvollen neuen Ansatz, der in Kombination mit anderen Therapieformen einen effektiven Schutz ermöglichen kann. Besonders für komplizierte Fälle bei der Alkoholsuchttherapie kann sich hier eine neue Möglichkeit eröffnen, um den Suchtkreislauf zu durchbrechen.

## 7. Schlussfolgerung

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen erstmals das enorme Wirkungsspektrum von Bup. auf das spezielle Trinkverhalten, wie dem bezüglich des Alkohols, und des allgemeinen Trinkverhaltens.

Mit diesen Ergebnissen zeigt sich auch eine direkte funktionelle Verbindung zwischen den Zentren des Alkoholtrinkverhaltens im mesolimbischen System und des allgemeinen Trinkverhaltens im Bereich der präoptischen Region, die durch morphologische Studien bisher vermutet wurde.

Es zeigte sich das enorme Potential von Bup. selektiv auf das Alkoholtrinkverhalten, indem dieses schon bei einer Dosis von 0.3mg/kgKG signifikant gesenkt wurde. Diese Wirkung wird vermutlich über das klassische Opioidrezeptorensystem vermittelt.

Im Weiteren Verlauf der Experimente zeigte sich dann noch eine deutliche Hemmung des allgemeinen Trinkverhaltens bei einer Dosis von 1.5mg/kgKG.

Dieser zusätzliche Effekt im Wirkungsbereich von Bup. stellt ein besonders interessantes Ergebnis dar. Da bereits bekannt ist, dass Bup. auch andere Rezeptoren zu besetzen vermag, liegt die Vermutung nahe, dass hier außer den Opioidrezeptoren auch noch andere Rezeptoren an der Wirkung beteiligt sind.

Dies lässt darauf schließen, dass eben solche Rezeptoren wie FQ-NOP oder ORL-1, mit denen Bup. ebenfalls in Interaktion treten kann, in wichtigen Kernbereichen enthalten sein müssen, die mit der Kontrolle des Trinkmechanismus beauftragt sind.

Im Umkehrschluss könnte man allerdings auch zu der Aussage gelangen, dass auch die senkende Wirkung auf den Alkoholkonsum durch Bup. nicht durch die klassischen Opioidrezeptoren vermittelt wird, sondern dass auch hier andere Rezeptortypen wie FQ-NOP oder ORL-1 beteiligt sein können. Diese Rezeptorgruppen müssten sich dann auch im mesolimbischen System finden lassen.

Als dritte Möglichkeit wäre es auch denkbar, dass es eine noch unbekannte Rezeptorengruppe gibt, die von Bup. beeinflusst werden kann und in dem Kontext von Bup. und Trinkverhalten mit involviert ist.

Weiterführende Studien sollten hier anknüpfen, um die Verteilung von Rezeptoren in bestimmten Kerngebieten zu untersuchen und auch um die hier dargestellten verhaltensphysiologischen Erkenntnisse durch elektrophysiologische Studien genauer aufzuklären. In diesem Zusammenhang ist es auch von weiterem anatomischem Interesse, die deutlich aufgezeigte funktionelle Verbindung zwischen den beiden Zentren um den NAcc und der präoptischen Region genauer zu beleuchten, um die einzelnen und komplexen Mechanismen besser verstehen zu können.

Bup. als gemischter Opioid Agonist/Antagonist hat bereits eine erfolgreiche Geschichte in der Herointherapie und wird momentan auch als mögliches Medikament zur Behandlung von Alkoholabhängigkeit diskutiert.

Auch wenn es noch ungeklärte Fragen im Bereich der klinischen Anwendung gibt, wie die Frage nach der Applikationsform oder ethische Probleme, so lässt der starke und auch selektive Effekt auf den Alkoholkonsum Bup. zu einem hoffnungsvollen Kandidaten im Bereich der Alkoholsuchttherapie werden.

## 8. Literatur

- Akil, H., S. J. Watson, et al. (1984). "Endogenous opioids: biology and function." Annu Rev Neurosci **7**: 223-55.
- American-Psychiatric-Association (1994). American Psychiatric Association, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders ((Fourth Edition)). Washington, DC, American Psychiatric Press.
- Andersson, B. and S. M. McCann (1955). "Drinking, antidiuresis and milk ejection from electrical stimulation within the hypothalamus of the goat." Acta Physiol Scand **35**(2): 191-201.
- Bailey, P. and F. Bremer (1921). "Experimental diabetes insipidus and genital atrophy." Endocrinology **5**: 761-2.
- Baker, T. B., M. E. Piper, et al. (2004). "Addiction motivation reformulated: an affective processing model of negative reinforcement." Psychol Rev **111**(1): 33-51.
- Bariess, W. and J. Kracht (1969). "[Relations between the juxtaglomerular apparatus and zona glomerulosa during NaCl loading, -deficiency and thirst]." Endokrinologie **54**(5): 327-43.
- Berkowitz, L. (1974). "Some determinants of impulsive aggression: role of mediated associations with reinforcements for aggression." Psychol Rev **81**(2): 165-76.
- Besse, D., M. C. Lombard, et al. (1990). "Pre- and postsynaptic location of mu, delta and kappa opioid receptors in the superficial layers of the dorsal horn of the rat spinal cord." Prog Clin Biol Res **328**: 183-6.
- Blake, M. J., E. A. Stein, et al. (1987). "Drinking-induced alterations in reward pathways: an in vivo autoradiographic analysis." Brain Res **413**(1): 111-9.
- Bloms-Funke, P., C. Gillen, et al. (2000). "Agonistic effects of the opioid buprenorphine on the nociceptin/OFQ receptor." Peptides **21**(7): 1141-6.
- Bodnar, R. J. (2007). "Endogenous opiates and behavior: 2006." Peptides **28**(12): 2435-513.
- Bodnar, R. J. and M. M. Hadjimarkou (2002). "Endogenous opiates and behavior: 2001." Peptides **23**(12): 2307-65.
- Bouby, N. and S. Fernandes (2003). "Mild dehydration, vasopressin and the kidney: animal and human studies." Eur J Clin Nutr **57 Suppl 2**: S39-46.
- Breese, G. R., A. L. Morrow, et al. (1993). "The neuroanatomical specificity of ethanol action on ligand-gated ion channels: a hypothesis." Alcohol Alcohol Suppl **2**: 309-13.
- Brewster, D., M. J. Humphrey, et al. (1981). "The systemic bioavailability of buprenorphine by various routes of administration." J Pharm Pharmacol **33**(8): 500-6.
- Briski, K. P. and L. Teodecki (1999). "Effects of mu and kappa opioid receptor antagonists on glucoprivic induction of Fos immunoreactivity in the rat preoptic area and hypothalamus." Brain Res Bull **49**(3): 181-7.

- Broca, P. (1878). "Anatomie comparée des circonvolutions cérébrales. Le grand lobe limbique et la scissure limbique dans la série des mammifères." Rev. Anthropol. **1**: pp. 385–498.
- Brunia, C. H. (2001). "Thalamo-cortical relations in attention and consciousness." Int J Psychophysiol **43**(1): 1-4.
- Cahill, C. M., K. A. McClellan, et al. (2001). "Immunohistochemical distribution of delta opioid receptors in the rat central nervous system: evidence for somatodendritic labeling and antigen-specific cellular compartmentalization." J Comp Neurol **440**(1): 65-84.
- Carlson, N. R. (2001). Drug Abuse. Physiology of Behavior. Massachusetts, Allyn and Bacon: 586-7.
- Carlson, N. R. (2001). Ingestive Behavior: Drinking. Physiology of Behavior. Massachusetts, Allyn and Bacon: 384-387.
- Carlson, N. R. (2001). Learning and Memory: Basic Mechanisms. Physiology of Behavior. Massachusetts, Allyn and Bacon: 458-9.
- Carlson, N. R. (2001). Structure of the Nervous System. Physiology of Behavior. Massachusetts, Allyn and Bacon: 81-82.
- Chandler, L. J., R. A. Harris, et al. (1998). "Ethanol tolerance and synaptic plasticity." Trends Pharmacol Sci **19**(12): 491-5.
- Ciccocioppo, R., D. Economidou, et al. (2007). "Buprenorphine reduces alcohol drinking through activation of the nociceptin/orphanin FQ-NOP receptor system." Biol Psychiatry **61**(1): 4-12.
- Ciraulo, A. M., N. Alpert, et al. (1997). "Naltrexone for the treatment of alcoholism." Am Fam Physician **56**(3): 803-6.
- Compton, P., W. Ling, et al. (2006). "Pharmacokinetics, bioavailability and opioid effects of liquid versus tablet buprenorphine." Drug Alcohol Depend **82**(1): 25-31.
- Cowan, A. (2003). "Buprenorphine: new pharmacological aspects." Int J Clin Pract Suppl(133): 3-8; discussion 23-4.
- Cowan, A., J. W. Lewis, et al. (1977). "Agonist and antagonist properties of buprenorphine, a new antinociceptive agent." Br J Pharmacol **60**(4): 537-45.
- Crews, F. T., A. L. Morrow, et al. (1996). "Effects of ethanol on ion channels." Int Rev Neurobiol **39**: 283-367.
- Czech, D. A., E. A. Stein, et al. (1983). "Naloxone-induced hypodipsia: a CNS mapping study." Life Sci **33**(8): 797-803.
- Dahan, A., A. Yassen, et al. (2005). "Comparison of the respiratory effects of intravenous buprenorphine and fentanyl in humans and rats." Br J Anaesth **94**(6): 825-34.
- Davis, M. P. (2005). "Buprenorphine in cancer pain." Support Care Cancer **13**(11): 878-87.
- de Castro, J. M. (1988). "Physiological, environmental, and subjective determinants of food intake in humans: a meal pattern analysis." Physiol Behav **44**(4-5): 651-9.
- Ding, Y. Q., T. Kaneko, et al. (1996). "Immunohistochemical localization of mu-opioid receptors in the central nervous system of the rat." J Comp Neurol **367**(3): 375-402.
- Elkader, A. and B. Sproule (2005). "Buprenorphine: clinical pharmacokinetics in the treatment of opioid dependence." Clin Pharmacokinet **44**(7): 661-80.
- Escher, M., Y. Daali, et al. (2007). "Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of buprenorphine after a single intravenous administration in

- healthy volunteers: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study." Clin Ther **29**(8): 1620-31.
- Estler, C.-J. (2000). Analgetika - Antiphlogistika - Antirheumatika: Narkotische Analgetika(Opiate und Opioide). Pharmakologie und Toxikologie. Stuttgart, Schattauer: 282-6.
- Evans, H. C. and S. E. Easthope (2003). "Transdermal buprenorphine." Drugs **63**(19): 1999-2010; discussion 2011-2.
- Evered, M. D. and M. M. Robinson (1984). "Increased or decreased thirst caused by inhibition of angiotensin-converting enzyme in the rat." J Physiol **348**: 573-88.
- Faerber, L., S. Drechsler, et al. (2007). "The neuronal 5-HT<sub>3</sub> receptor network after 20 years of research--evolving concepts in management of pain and inflammation." Eur J Pharmacol **560**(1): 1-8.
- Fitzsimons, J. T. and M. J. Moore-Gillon (1980). "Drinking and antidiuresis in response to reductions in venous return in the dog: neural and endocrine mechanisms." J Physiol **308**: 403-16.
- Forth, W., D. Henschler, et al. (1996). Analgetika, Antiphlogistika: Opioidanalgetika. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Heidelberg, Spektrum Akademischer Verlag: 207-9.
- George, S. R., R. L. Zastawny, et al. (1994). "Distinct distributions of mu, delta and kappa opioid receptor mRNA in rat brain." Biochem Biophys Res Commun **205**(2): 1438-44.
- Gessa, G. L., F. Muntoni, et al. (1985). "Low doses of ethanol activate dopaminergic neurons in the ventral tegmental area." Brain Res **348**(1): 201-3.
- Gianoulakis, C. (1993). "Endogenous opioids and excessive alcohol consumption." J Psychiatry Neurosci **18**(4): 148-56.
- Gianoulakis, C. (2001). "Influence of the endogenous opioid system on high alcohol consumption and genetic predisposition to alcoholism." J Psychiatry Neurosci **26**(4): 304-18.
- Gianoulakis, C. (2004). "Endogenous opioids and addiction to alcohol and other drugs of abuse." Curr Top Med Chem **4**(1): 39-50.
- Gianoulakis, C. and J. P. de Waele (1994). "Genetics of alcoholism: role of the endogenous opioid system." Metab Brain Dis **9**(2): 105-31.
- Hakansson, A., A. Medvedeo, et al. (2007). "Buprenorphine misuse among heroin and amphetamine users in Malmo, Sweden: purpose of misuse and route of administration." Eur Addict Res **13**(4): 207-15.
- Harvey, J. A. and H. F. Hunt (1965). "Effect of Septal Lesions on Thirst in the Rat as Indicated by Water Consumption and Operant Responding for Water Reward." J Comp Physiol Psychol **59**: 49-56.
- Heilig, M. and M. Egli (2006). "Pharmacological treatment of alcohol dependence: target symptoms and target mechanisms." Pharmacol Ther **111**(3): 855-76.
- Heimer, L. and G. W. Van Hoesen (2006). "The limbic lobe and its output channels: implications for emotional functions and adaptive behavior." Neurosci Biobehav Rev **30**(2): 126-47.
- Heimer, L., D. S. Zahm, et al. (1991). "Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat." Neuroscience **41**(1): 89-125.
- Herz, A. (1997). "Endogenous opioid systems and alcohol addiction." Psychopharmacology (Berl) **129**(2): 99-111.
- Hjelmstad, G. O. and H. L. Fields (2001). "Kappa opioid receptor inhibition of glutamatergic transmission in the nucleus accumbens shell." J Neurophysiol **85**(3): 1153-8.

- Huang, W., D. E. Moody, et al. (2006). "The in vivo glucuronidation of buprenorphine and norbuprenorphine determined by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry." Ther Drug Monit **28**(2): 245-51.
- Huang, Y. H. and G. J. Mogenson (1972). "Neural pathways mediating drinking and feeding in rats." Exp Neurol **37**(2): 269-86.
- Ikeda, M., C. S. Nelson, et al. (2001). "Cyclic AMP regulates the calcium transients released from IP(3)-sensitive stores by activation of rat kappa-opioid receptors expressed in CHO cells." Cell Calcium **29**(1): 39-48.
- Imperato, A. and G. Di Chiara (1986). "Preferential stimulation of dopamine release in the nucleus accumbens of freely moving rats by ethanol." J Pharmacol Exp Ther **239**(1): 219-28.
- Iwata, B. A. (1987). "Negative reinforcement in applied behavior analysis: an emerging technology." J Appl Behav Anal **20**(4): 361-78.
- Jaffe, A. J., B. Rounsaville, et al. (1996). "Naltrexone, relapse prevention, and supportive therapy with alcoholics: an analysis of patient treatment matching." J Consult Clin Psychol **64**(5): 1044-53.
- Jensen, M. L., D. J. Foster, et al. (2007). "Population pharmacokinetics of buprenorphine following a two-stage intravenous infusion in healthy volunteers." Eur J Clin Pharmacol **63**(12): 1153-9.
- Johnson, A. K. and J. Buggy (1978). "Periventricular preoptic-hypothalamus is vital for thirst and normal water economy." Am J Physiol **234**(3): R122-9.
- Johnson, R. E., P. J. Fudala, et al. (2005). "Buprenorphine: considerations for pain management." J Pain Symptom Manage **29**(3): 297-326.
- Johnson, R. E., E. C. Strain, et al. (2003). "Buprenorphine: how to use it right." Drug Alcohol Depend **70**(2 Suppl): S59-77.
- Johnson, R. F. and A. K. Johnson (1997). "The interaction of meal-related, rhythmic and homeostatic mechanisms and the generation of thirst and drinking." Braz J Med Biol Res **30**(4): 487-91.
- Joseph, R. (1992). "The limbic system: emotion, laterality, and unconscious mind." Psychoanal Rev **79**(3): 405-56.
- June, H. L., C. R. Cason, et al. (1998). "Buprenorphine alters ethanol self-administration in rats: dose-response and time-dependent effects." Psychopharmacology (Berl) **140**(1): 29-37.
- Kadekaro, M., M. Creel, et al. (1989). "Effects of sinoaortic denervation on glucose utilization in the subfornical organ and pituitary neural lobe during administration of angiotensin II." Peptides **10**(1): 103-8.
- Kajiwara, M., K. Aoki, et al. (1986). "Agonist and antagonist actions of buprenorphine on three types of opioid receptor in isolated preparations." Jpn J Pharmacol **40**(1): 95-101.
- Kakko, J., K. D. Svanborg, et al. (2003). "1-year retention and social function after buprenorphine-assisted relapse prevention treatment for heroin dependence in Sweden: a randomised, placebo-controlled trial." Lancet **361**(9358): 662-8.
- Kandel, E. R., J. H. Schwartz, et al. (1991). Hypothalamus and Limbic System. Principles of Neural Science. New York, Elsevier: 737.
- Kandel, E. R., J. H. Schwartz, et al. (1991). Principles of Neural Science - Third Edition. New York, Elsevier.
- Kautzmann, G. and G. Miketta (2001). Das Wunder im Kopf. München, Zabert Sandmann.
- Keane, M. M., J. D. Gabrieli, et al. (1995). "Double dissociation of memory capacities after bilateral occipital-lobe or medial temporal-lobe lesions." Brain **118** ( Pt 5): 1129-48.

- Kelley, A. E., B. A. Baldo, et al. (2005). "Corticostratial-hypothalamic circuitry and food motivation: integration of energy, action and reward." Physiol Behav **86**(5): 773-95.
- Kelley, A. E. and K. C. Berridge (2002). "The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs." J Neurosci **22**(9): 3306-11.
- Kenna, G. A., J. E. McGeary, et al. (2004). "Pharmacotherapy, pharmacogenomics, and the future of alcohol dependence treatment, Part 2." Am J Health Syst Pharm **61**(22): 2380-8.
- Khan, F. A., G. A. Memon, et al. (2002). "Effect of route of buprenorphine on recovery and postoperative analgesic requirement in paediatric patients." Paediatr Anaesth **12**(9): 786-90.
- Koob, G. F. (2000). "Animal models of craving for ethanol." Addiction **95 Suppl 2**: S73-81.
- Koob, G. F. (2000). "Neurobiology of addiction. Toward the development of new therapies." Ann N Y Acad Sci **909**: 170-85.
- Koob, G. F. (2003). "Alcoholism: allostasis and beyond." Alcohol Clin Exp Res **27**(2): 232-43.
- Koob, G. F., S. Rassnick, et al. (1994). "Alcohol, the reward system and dependence." Exs **71**: 103-14.
- Koob, G. F., A. J. Roberts, et al. (1998). "Neurocircuitry targets in ethanol reward and dependence." Alcohol Clin Exp Res **22**(1): 3-9.
- Koob, G. F. and N. R. Swerdlow (1988). "The functional output of the mesolimbic dopamine system." Ann N Y Acad Sci **537**: 216-27.
- Koob, G. F., N. R. Swerdlow, et al. (1991). "Functional output of the basal forebrain." Adv Exp Med Biol **295**: 291-305.
- Koob, G. F. and F. Weiss (1990). "Pharmacology of drug self-administration." Alcohol **7**(3): 193-7.
- Kornetsky, C. (1979). "Functional, anatomical and pharmacological aspects of central motivational systems: a tribute to James Olds. Introduction." Fed Proc **38**(11): 2445.
- Kraly, F. S. (1990). "Pregastric food-contingent stimulation elicits drinking in the absence of systemic dehydration in the rat." Physiol Behav **48**(6): 841-4.
- Kraly, F. S., Y. M. Kim, et al. (1995). "Drinking after intragastric NaCl without increase in systemic plasma osmolality in rats." Am J Physiol **269**(5 Pt 2): R1085-92.
- Kreek, M. J., K. S. LaForge, et al. (2002). "Pharmacotherapy of addictions." Nat Rev Drug Discov **1**(9): 710-26.
- Leander, J. D. (1987). "Buprenorphine has potent kappa opioid receptor antagonist activity." Neuropharmacology **26**(9): 1445-7.
- Lewis, J. W. (1985). "Buprenorphine." Drug Alcohol Depend **14**(3-4): 363-72.
- Lewis, M. J. (1990). "Alcohol: mechanisms of addiction and reinforcement." Adv Alcohol Subst Abuse **9**(1-2): 47-66.
- Lewis, M. J. (1996). "Alcohol reinforcement and neuropharmacological therapeutics." Alcohol Alcohol Suppl **1**: 17-25.
- Liberzon, I., S. F. Taylor, et al. (2000). "Limbic activation and psychophysiologic responses to aversive visual stimuli. Interaction with cognitive task." Neuropsychopharmacology **23**(5): 508-16.
- Lindhardt, K., C. Ravn, et al. (2000). "Intranasal absorption of buprenorphine--in vivo bioavailability study in sheep." Int J Pharm **205**(1-2): 159-63.
- Liu, J. G., Z. H. Gong, et al. (1999). "Effects of opioid receptor agonists on cAMP second messenger system." Zhongguo Yao Li Xue Bao **20**(5): 452-6.



- MacLean, P. D. (1949). "Psychosomatic disease and the "visceral brain": Recent developments bearing on the Papez theory of emotion." Psychosomatic Medicine **11**: 338-353.
- Maggi, R., P. Limonta, et al. (1989). "Distribution of kappa opioid receptors in the brain of young and old male rats." Life Sci **45**(22): 2085-92.
- Mansour, A., C. A. Fox, et al. (1994). "Mu, delta, and kappa opioid receptor mRNA expression in the rat CNS: an in situ hybridization study." J Comp Neurol **350**(3): 412-38.
- Martin, G., Z. Nie, et al. (1997). "mu-Opioid receptors modulate NMDA receptor-mediated responses in nucleus accumbens neurons." J Neurosci **17**(1): 11-22.
- McKinley, M. J., M. L. Mathai, et al. (2004). "Vasopressin secretion: osmotic and hormonal regulation by the lamina terminalis." J Neuroendocrinol **16**(4): 340-7.
- Mello, N. K., J. H. Mendelson, et al. (1993). "Buprenorphine treatment of opiate and cocaine abuse: clinical and preclinical studies." Harv Rev Psychiatry **1**(3): 168-83.
- Meredith, G. E., A. Pattiselanno, et al. (1996). "Shell and core in monkey and human nucleus accumbens identified with antibodies to calbindin-D28k." J Comp Neurol **365**(4): 628-39.
- Nakano, I. (1998). "The limbic system: An outline and brief history of its concept." Neuropathology **18**(2): 211-214.
- Nieuwenhuys, R. (1996). "The greater limbic system, the emotional motor system and the brain." Prog Brain Res **107**: 551-80.
- Numan, M., M. J. Numan, et al. (2005). "Medial preoptic area interactions with the nucleus accumbens-ventral pallidum circuit and maternal behavior in rats." Behav Brain Res **158**(1): 53-68.
- Ohtani, M., H. Kotaki, et al. (1994). "Pharmacokinetic analysis of enterohepatic circulation of buprenorphine and its active metabolite, norbuprenorphine, in rats." Drug Metab Dispos **22**(1): 2-7.
- Olds, J. and P. Milner (1954). "Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain." J Comp Physiol Psychol **47**(6): 419-27.
- Olkola, K. T., K. Hamunen, et al. (1995). "Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of opioid analgesics in infants and children." Clin Pharmacokinet **28**(5): 385-404.
- Olton, D. S., J. A. Walker, et al. (1982). "A disconnection analysis of hippocampal function." Brain Res **233**(2): 241-53.
- O'Malley, S. S. (1996). "Opioid antagonists in the treatment of alcohol dependence: clinical efficacy and prevention of relapse." Alcohol Alcohol Suppl **1**: 77-81.
- Papez, J. (1937). "A proposed mechanism of emotion." Arch. Neurol. Psychiatry **38**: pp. 725-743.
- Papez, J. W. (1995). "A proposed mechanism of emotion. 1937." J Neuropsychiatry Clin Neurosci **7**(1): 103-12.
- Peckys, D. and G. B. Landwehrmeyer (1999). "Expression of mu, kappa, and delta opioid receptor messenger RNA in the human CNS: a 33P in situ hybridization study." Neuroscience **88**(4): 1093-135.
- Peters, Y. M., P. O'Donnell, et al. (2005). "Prefrontal cortical cell firing during maintenance, extinction, and reinstatement of goal-directed behavior for natural reward." Synapse **56**(2): 74-83.
- Pick, C. G., Y. Peter, et al. (1997). "Pharmacological characterization of buprenorphine, a mixed agonist-antagonist with kappa 3 analgesia." Brain Res **744**(1): 41-6.

- Powell, E. W. and R. B. Leman (1976). "Connections of the nucleus accumbens." Brain Res **105**(3): 389-403.
- Pratt, J. A. (1992). "The neuroanatomical basis of anxiety." Pharmacol Ther **55**(2): 149-81.
- Rassnick, S., E. D'Amico, et al. (1993). "GABA antagonist and benzodiazepine partial inverse agonist reduce motivated responding for ethanol." Alcohol Clin Exp Res **17**(1): 124-30.
- Reynaud, M., A. Tracqui, et al. (1998). "Six deaths linked to misuse of buprenorphine-benzodiazepine combinations." Am J Psychiatry **155**(3): 448-9.
- Rolls, B. J. and E. T. Rolls (1973). "Effects of lesions in the basolateral amygdala on fluid intake in the rat." J Comp Physiol Psychol **83**(2): 240-7.
- Sadee, W., J. S. Rosenbaum, et al. (1982). "Buprenorphine: differential interaction with opiate receptor subtypes in vivo." J Pharmacol Exp Ther **223**(1): 157-62.
- Salamone, J. D., M. Correa, et al. (2003). "Nucleus accumbens dopamine and the regulation of effort in food-seeking behavior: implications for studies of natural motivation, psychiatry, and drug abuse." J Pharmacol Exp Ther **305**(1): 1-8.
- Samson, H. H. (1986). "Initiation of ethanol reinforcement using a sucrose-substitution procedure in food- and water-sated rats." Alcohol Clin Exp Res **10**(4): 436-42.
- Samson, H. H. and K. A. Grant (1990). "Some implications of animal alcohol self-administration studies for human alcohol problems." Drug Alcohol Depend **25**(2): 141-4.
- Samson, H. H., A. O. Pfeffer, et al. (1988). "Oral ethanol self-administration in rats: models of alcohol-seeking behavior." Alcohol Clin Exp Res **12**(5): 591-8.
- Sittl, R. (2006). "Transdermal buprenorphine in cancer pain and palliative care." Palliat Med **20 Suppl 1**: s25-30.
- Snider, R. S. and A. Maiti (1976). "Cerebellar contributions to the Papez circuit." J Neurosci Res **2**(2): 133-46.
- Sofroniew, M. V. (1980). "Projections from vasopressin, oxytocin, and neurophysin neurons to neural targets in the rat and human." J Histochem Cytochem **28**(5): 475-8.
- Sofroniew, M. V. and U. Schrell (1980). "Hypothalamic neurons projecting to the rat caudal medulla oblongata, examined by immunoperoxidase staining of retrogradely transported horseradish peroxidase." Neurosci Lett **19**(3): 257-63.
- Spanagel, R. (2003). "Alcohol addiction research: from animal models to clinics." Best Pract Res Clin Gastroenterol **17**(4): 507-18.
- Steffensen, S. C., R. S. Lee, et al. (2001). "Responses of ventral tegmental area GABA neurons to brain stimulation reward." Brain Res **906**(1-2): 190-7.
- Stock, C. and J. H. Shum (2004). "Buprenorphine: a new pharmacotherapy for opioid addictions treatment." J Pain Palliat Care Pharmacother **18**(3): 35-54.
- Sumner, B. E., J. E. Coombes, et al. (1990). "Opioid receptor subtypes in the supraoptic nucleus and posterior pituitary gland of morphine-tolerant rats." Neuroscience **37**(3): 635-45.
- Sung, S. and J. M. Conry (2006). "Role of buprenorphine in the management of heroin addiction." Ann Pharmacother **40**(3): 501-5.
- Sutherland, R. J. and A. J. Rodriguez (1989). "The role of the fornix/fimbria and some related subcortical structures in place learning and memory." Behav Brain Res **32**(3): 265-77.
- Tanaka, J., H. Saito, et al. (1988). "The median preoptic nucleus participates in the control of paraventricular vasopressin neurons by the subfornical organ in the rat." Brain Res **461**(2): 403-6.

- Taugner, R., C. P. Buhle, et al. (1986). "Typical and atypical aspects of renin secretion from juxtaglomerular epithelioid cells." Klin Wochenschr **64**(18): 829-37.
- Trepel, M. (2004). Großhirn(Telencephalon) und funktionelle Bahnsysteme. Neuroanatomie: Struktur und Funktion. München, Urban & Fischer: 194-7.
- Vadivelu, N. and R. L. Hines (2007). "Buprenorphine: a unique opioid with broad clinical applications." J Opioid Manag **3**(1): 49-58.
- Van Ree, J. M., R. J. Niesink, et al. (2000). "Endogenous opioids and reward." Eur J Pharmacol **405**(1-3): 89-101.
- Vartiainen, I. (1967). "The inheritance of craving for sugar in rats." Ann Med Intern Fenn **56**(4): 137-53.
- Vengeliene, V., D. Bachteler, et al. (2005). "The role of the NMDA receptor in alcohol relapse: a pharmacological mapping study using the alcohol deprivation effect." Neuropharmacology **48**(6): 822-9.
- Verney, E. B. (1947). "The antidiuretic hormone and factors which determine its release." Proc. R. Soc. B(135): 25-106.
- Vetulani, J. (2001). "Drug addiction. Part II. Neurobiology of addiction." Pol J Pharmacol **53**(4): 303-17.
- Volpicelli, J. R., A. I. Alterman, et al. (1992). "Naltrexone in the treatment of alcohol dependence." Arch Gen Psychiatry **49**(11): 876-80.
- Walsh, L. L. and S. P. Grossman (1978). "Dissociation of responses to extracellular thirst stimuli following zona incerta lesions." Pharmacol Biochem Behav **8**(4): 409-15.
- Weiss, F., M. Mitchiner, et al. (1990). "Free-choice responding for ethanol versus water in alcohol preferring (P) and unselected Wistar rats is differentially modified by naloxone, bromocriptine, and methysergide." Psychopharmacology (Berl) **101**(2): 178-86.
- Westerink, B. H., H. F. Kwint, et al. (1997). "Eating-induced dopamine release from mesolimbic neurons is mediated by NMDA receptors in the ventral tegmental area: a dual-probe microdialysis study." J Neurochem **69**(2): 662-8.
- White, F. J. (1996). "Synaptic regulation of mesocorticolimbic dopamine neurons." Annual Review of Neuroscience **19**: 405-436.
- Wiener, S. I., A. Berthoz, et al. (2002). "Multisensory processing in the elaboration of place and head direction responses by limbic system neurons." Brain Res Cogn Brain Res **14**(1): 75-90.
- Winters, K. C., W. Latimer, et al. (1999). "The DSM-IV criteria for adolescent alcohol and cannabis use disorders." J Stud Alcohol **60**(3): 337-44.
- Yamamoto, T., K. Shono, et al. (2006). "Buprenorphine activates mu and opioid receptor like-1 receptors simultaneously, but the analgesic effect is mainly mediated by mu receptor activation in the rat formalin test." J Pharmacol Exp Ther **318**(1): 206-13.
- Yassen, A., E. Olofsen, et al. (2007). "Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling of the Effectiveness and Safety of Buprenorphine and Fentanyl in Rats." Pharm Res.
- Yuan, C. S. and W. D. Barber (1992). "Hypothalamic unitary responses to gastric vagal input from the proximal stomach." Am J Physiol **262**(1 Pt 1): G74-80.
- Zahm, D. S. and L. Heimer (1993). "Specificity in the efferent projections of the nucleus accumbens in the rat: comparison of the rostral pole projection patterns with those of the core and shell." J Comp Neurol **327**(2): 220-32.

- Zanette, G., G. Manani, et al. (1996). "Respiratory depression following administration of low dose buprenorphine as postoperative analgesic after fentanyl balanced anaesthesia." Paediatr Anaesth **6**(5): 419-22.
- Zigmond, M. J., F. E. Bloom, et al. (1999). Brain aversion systems. Fundamental Neuroscience. San Diego, Academic Press: 1256-7.

## **Anhang**

### **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen den Menschen zu danken, die an der Idee, Planung, Durchführung und Fertigstellung dieser Arbeit beteiligt waren, und somit entscheidend zur Realisierung beitrugen.

Ein großer Dank geht vor allem an meine gesamte Familie für ihre enorme Geduld und Liebe sowie ihren immer wieder starken Zuspruch.

Ebenso mag ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Jirikowski danken, der eine ebenso große Geduld bewiesen hat und mir besonders in der Endphase mit wertvollem Rat beistand und es im richtigen Moment verstand den entscheidenden Ansporn zu streuen.

PhD MD M. Heilig, MD W. Sommer und PhD R. Rimondini aus dem damalige Labor am Karolinska Institut danke ich für die gute Betreuung während meiner Arbeit in ihrer Forschungsgruppe und die tiefen und interessanten Einblicke in die experimentelle Psychiatrie, die mir dadurch ermöglicht wurden.

Anika Winter mit Familie, Suse und Michael Stein sowie Rene Krieg – habt Dank für eure aufmerksamen Augen und die tiefe Freundschaft, die mir so viel Kraft beschert.

Dem Böhlinger Ingelheim Fonds, für ein Kurzstipendium im Zeitraum von Oktober 2002 bis Januar 2003, das mir den Forschungsaufenthalt in Schweden ermöglichte.

Für die Unterstützung vom Swedish Medical Research Council (grant K2001-21X – 10872 to M.H.) und der Swedish Medical Association (SLS grant 2002-730 to R.R.), ohne die die Experimente nicht möglich gewesen wären.

## Lebenslauf mit wissenschaftlichem Werdegang

### *Persönliche Daten*

Name	Matthias Marquitz
Geburtsdatum	29.02.1980
Geburtsort	Zwickau
Familienstand	ledig
Staatsangehörigkeit	deutsch

### *Schulbildung*

1986 – 1992	Wilhelm-Pieck/ Nicolai-Grundschule, Zwickau
1992 – 1998	Käthe-Kollwitz-Gymnasium Zwickau
Juli 1998	Abitur
Sep. 1998 – Aug. 1999	Freiwilliges-Soziales-Jahr

### *Studium*

Okt. 1999 – Sep. 2002	Studium der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität – Jena (FSU-Jena)
Sep. 2001	Ärztliche Vorprüfung an der FSU-Jena
Sep. 2002	Erstes Staatsexamen an der FSU-Jena
Okt. 2002 – Sep. 2003	wissenschaftlicher Mitarbeiter am Karolinska Institut in Stockholm bei PhD MD Markus Heilig
Okt. 2003 – Apr. 2007	Studium der Humanmedizin an der FSU-Jena
Apr. 2007	Drittes Staatsexamen an der FSU-Jena

### *Poster*

2003	Neuroscience: 853.2 Possible interactions between opioid system and alcohol intake: behavioral evidences.
------	--

### *Publikation*

Juli 2007	Sommer WH, Rimondini R, Marquitz M, Lidström J, Siems WE, Bader M, Heilig M. Plasticity and impact of the central renin-angiotensin system during development of ethanol dependence. J Mol Med. 2007 Oct;85(10):1089-97. Epub 2007 Sep 7
-----------	--

Jena, den 23.1.2008

**Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist, ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönliche Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind, mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung der Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Prof. Dr. G.F. Jirikowski, PhD MD M. Heilig, die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde, und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für die Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe, und dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 23.1.2008

Matthias Marquitz